

# Les bases moléculaires de l'hérédité

# 16



## VOS OUTILS INTERACTIFS



Consultez votre **MANUEL NUMÉRIQUE**, qui vous donne accès aux **animations**, aux **exercices** et à la plateforme d'**anatomie interactive**.

▲ **Figure 16.1** Quelle est la structure de l'ADN ?

## CONCEPTS CLÉS

- 16.1** L'ADN constitue le matériel génétique
- 16.2** De nombreuses protéines travaillent de concert pour la réplication et la réparation de l'ADN
- 16.3** Un chromosome est constitué d'ADN et de protéines regroupés en un complexe nucléoprotéique



▲ James Watson (à gauche) et Francis Crick devant leur modèle d'ADN.

## Le manuel d'instructions des processus de la vie

L'élégante structure à **double hélice** de l'acide désoxyribonucléique (ADN) est devenue une icône de la biologie moderne (**figure 16.1**). En avril 1953, James Watson et Francis Crick ont fait sensation dans le monde scientifique en dévoilant leur modèle d'ADN, qu'ils ont construit à l'aide de tôle et de fils métalliques (voir la photographie en bas, à gauche). Les facteurs héréditaires de Mendel et les gènes que Thomas Hunt Morgan a localisés sur les chromosomes sont en fait composés d'ADN. Du point de vue chimique, votre génome est formé de l'ADN que vous avez reçu de vos parents. L'ADN, le fondement matériel de l'hérédité, est la molécule la plus célèbre de l'époque moderne.

De toutes les molécules présentes dans la nature, seuls les acides nucléiques peuvent diriger leur propre réplication à partir de monomères. Les enfants ressemblent à leurs parents parce que l'ADN de ces derniers se réplique d'une manière précise avant d'être transmis d'une génération à l'autre. L'information héréditaire de l'ADN détermine la nature de nos caractéristiques biochimiques, anatomiques et physiologiques ainsi que, dans une certaine mesure, la portion innée de notre comportement. Dans ce chapitre, vous découvrirez comment les biologistes ont établi que l'ADN constitue le fondement concret de la génétique et comment Watson et Crick ont trouvé sa structure. Vous apprendrez également comment se déroule la **réplication de l'ADN**, qui permet de reproduire cette molécule en deux copies, et comment les cellules effectuent sa réparation. Enfin, vous examinerez comment une molécule d'ADN est emballée avec des protéines dans un chromosome.

## L'ADN constitue le matériel génétique

Aujourd'hui, même les petits écoliers ont entendu parler de l'ADN, et les scientifiques manipulent régulièrement cette substance au laboratoire. Au début du 20<sup>e</sup> siècle, cependant, l'identification des molécules de l'hérédité apparaissait aux biologistes comme un défi de taille.

### La recherche du matériel génétique: démarche scientifique

À partir du moment où le groupe de T. H. Morgan a démontré que les gènes faisaient partie des chromosomes (voir le concept 15.1), on a su que le matériel génétique devait être formé d'ADN, ou de protéines, puisque ce sont les deux composants chimiques des chromosomes. Jusqu'aux années 1940, on semblait pencher pour les protéines, car on savait qu'elles formaient une catégorie de macromolécules dotées d'une grande hétérogénéité et d'une spécificité fonctionnelle, des qualités essentielles qui devaient être celles du matériel génétique. En outre, les protéines sont très abondantes dans toutes les cellules. Même si la découverte de l'ADN par l'Allemand Friedrich Miescher remontait à 1869, on en savait alors peu sur les acides nucléiques et l'uniformité de leurs propriétés physiques et chimiques ne permettait pas d'expliquer la multitude des caractères héréditaires exprimés par tout organisme. Mais ce point de vue a changé quand on a réussi à démontrer le rôle joué par l'ADN dans l'hérédité au moyen de travaux réalisés sur des bactéries et sur les virus qui les infectent, des systèmes beaucoup moins complexes que les mouches du vinaigre ou les êtres humains. Décrivons maintenant les recherches qui ont mené à l'identification du matériel génétique. Cette démarche constituera également une étude de cas portant sur la démarche scientifique.

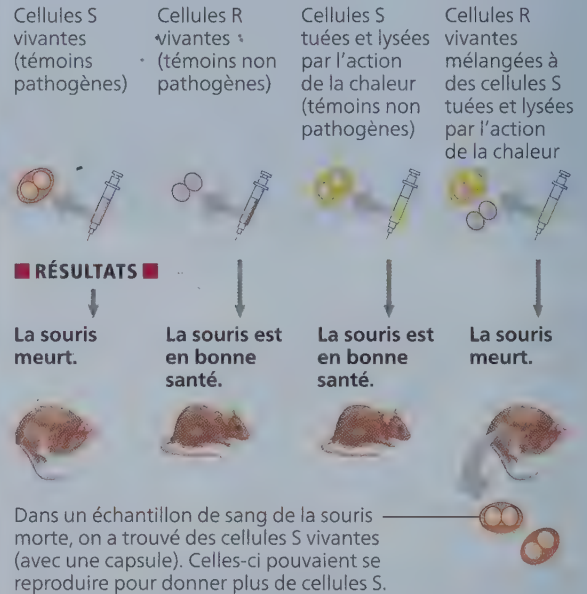
### La preuve de la transformation de bactéries par l'ADN

En 1928, un médecin militaire britannique du nom de Frederick Griffith tentait de mettre au point un vaccin contre la pneumonie. Il étudiait *Streptococcus pneumoniae*, une bactérie qui cause la pneumonie ainsi que plusieurs autres maladies chez les mammifères. Il travaillait sur deux souches (variétés): une variété pathogène (qui peut causer la maladie) et une variété non pathogène (inoffensive). Même si son travail n'a pas donné le vaccin qu'il espérait, il a quand même fait une découverte très importante. En effet, il a eu la surprise de constater que, lorsqu'il tuait des bactéries pathogènes par l'action de la chaleur et qu'il mélangeait leurs résidus avec des bactéries vivantes de la souche non pathogène, certaines de celles-ci devenaient pathogènes et provoquaient la pneumonie quand on les inoculait à des souris (**figure 16.2**). De plus, ce caractère nouvellement acquis était transmis héréditairement à tous les descendants des bactéries transformées. Cette modification héréditaire semblait être causée par une substance chimique provenant des bactéries pathogènes mortes et lysées. Cependant, la nature de la substance responsable était encore inconnue. Griffith a donné à ce phénomène le nom de **transformation**, que l'on définit

### Un caractère génétique peut-il se transmettre héréditairement entre différentes souches de bactéries ?

■ **HYPOTHÈSE** ■ Si un facteur héréditaire permet à des bactéries de causer la pneumonie chez les souris, ce facteur devrait transformer des bactéries inoffensives en bactéries pathogènes.

■ **EXPÉRIENCE** ■ Frederick Griffith a étudié deux souches de la bactérie *Streptococcus pneumoniae*. La souche «S» (pour *smooth* ou lisse) cause la pneumonie chez les souris; elle est pathogène parce qu'une capsule protège ses cellules contre le système immunitaire des animaux. Les cellules de la souche «R» (pour *rough* ou rugueuses) sont dépourvues de capsule et ne sont pas pathogènes. Afin de vérifier le pouvoir pathogène de ces deux souches, Frederick Griffith les a inoculées à des souris:



■ **CONCLUSION** ■ Les bactéries vivantes de la souche R ont été transformées en bactéries pathogènes de la souche S par une substance inconnue et héréditaire provenant des cellules mortes de la souche S. Cette substance a permis aux cellules de la souche R de fabriquer des capsules.

**Source des données:** F. Griffith, The significance of pneumococcal types, *Journal of Hygiene* 27: 113-159 (1928).

**ET SI ?** ► Comment cette expérience exclut-elle la possibilité que les cellules de la souche R puissent avoir simplement utilisé les capsules des cellules mortes de la souche S pour devenir pathogènes ?

actuellement comme une modification du génotype et du phénotype à l'issue de l'assimilation par une cellule d'un ADN qui lui est étranger. Quelques années plus tard, les travaux de recherche menés par Oswald Avery, Maclyn McCarty et Colin MacLeod ont démontré que l'ADN était la substance à l'origine de cette transformation.

Les scientifiques sont toutefois demeurés sceptiques, plusieurs d'entre eux estimant toujours que le matériel génétique devait être principalement constitué de protéines. De plus, de nombreux biologistes n'étaient pas convaincus que la composition et la fonction des gènes bactériens étaient identiques à celles des organismes plus complexes.

### La preuve de la programmation de cellules par l'ADN viral

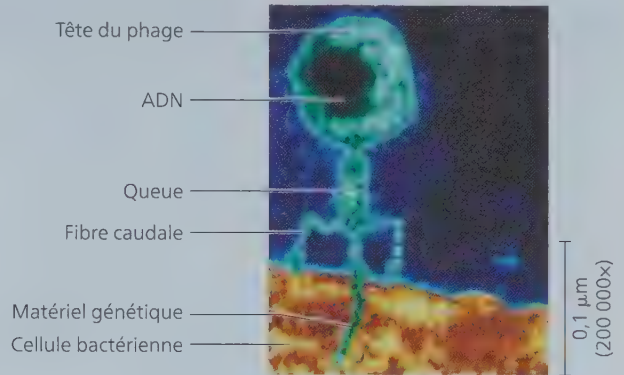
Des études portant sur un virus qui infecte des bactéries ont fourni d'autres preuves que le matériel génétique est constitué d'ADN (figure 16.3). On appelle ces virus **bactériophages** («mangeurs de bactéries») ou, tout simplement, **phages**. L'organisation des virus est beaucoup plus simple que celle des cellules. Un **virus** est essentiellement constitué d'ADN (ou parfois d'ARN) enfermé dans une enveloppe protectrice (la capsid) qui n'est souvent formée que de protéines. Pour se reproduire, un virus doit infecter une cellule et détourner à son profit le métabolisme de celle-ci.

Les phages ont été largement utilisés comme outils de recherche par les chercheurs en génétique moléculaire. En 1952, Alfred Hershey et Martha Chase ont découvert que le matériel génétique d'un phage appelé T2 est constitué d'ADN. Il s'agit de l'un des nombreux phages qui infectent *Escherichia coli* (*E. coli*), une bactérie qui vit normalement dans l'intestin des mammifères et qui sert d'organisme modèle pour les biologistes moléculaires. À cette époque, les biologistes savaient déjà que, à l'instar de nombreux autres virus, T2 est presque entièrement composé d'ADN et de protéines. Ils savaient également que ce phage peut rapidement faire d'une cellule d'*E. coli* une machine à produire de nouveaux phages T2, qu'elle libère en éclatant. Ce phage pouvait donc reprogrammer la cellule hôte et lui faire produire des virus. Mais à quel composant ce mécanisme était-il dû : aux protéines ou à l'ADN ?

Pour répondre à cette question, Hershey et Chase ont conçu une expérience pour démontrer qu'un seul des deux composants de T2 pénètre dans la cellule d'*E. coli* au moment de l'infection (figure 16.4). Dans leur expérience, ils ont utilisé un isotope radioactif du soufre pour marquer la protéine dans une culture de T2 et, dans une deuxième culture, un isotope radioactif du phosphore pour marquer l'ADN. Comme les protéines, au contraire de l'ADN, renferment du soufre (deux acides aminés en possèdent ; voir la figure 5.14), les atomes de soufre radioactif se sont incorporés seulement dans les protéines des phages. De la même manière, étant donné que presque tout le phosphore contenu dans un phage se trouve dans son ADN, cette procédure permet de ne marquer que l'ADN des phages. L'expérience consistait à laisser les phages T2 de chaque lot infecter des échantillons distincts de bactéries *E. coli* normales (non marquées). Peu après le début de l'infection, les chercheurs ont testé les deux échantillons pour voir quel type de molécules, protéines ou ADN, avait pénétré à l'intérieur des cellules bactériennes et serait par conséquent capable de les reprogrammer.

### ▼ Figure 16.3 Un virus infectant une cellule bactérienne.

Un phage appelé T2 se fixe aux cellules hôtes et leur injecte son matériel génétique à travers la membrane plasmique, tandis que les parties de la tête et de la queue restent à l'extérieur sur la surface bactérienne (MET).



Hershey et Chase ont découvert que l'ADN des phages pénètre dans les cellules hôtes, contrairement à leurs protéines. De plus, lorsque les bactéries étaient remises en culture et que l'infection se poursuivait, les cellules d'*E. coli* libéraient des phages contenant de petites quantités de phosphore radioactif. Cela démontre que l'ADN à l'intérieur de la cellule continue à jouer un rôle au cours du processus d'infection. Hershey et Chase en ont conclu que l'ADN du virus injecté par le phage devait être la molécule transmettant l'information génétique qui force la cellule bactérienne à produire des protéines et de l'ADN viraux qui s'assemblent ensuite pour former de nouveaux virus. L'expérience de Hershey et Chase a constitué un jalon parce qu'elle a montré de façon convaincante que le matériel héréditaire se compose d'acides nucléiques et non de protéines, tout au moins chez certains virus.

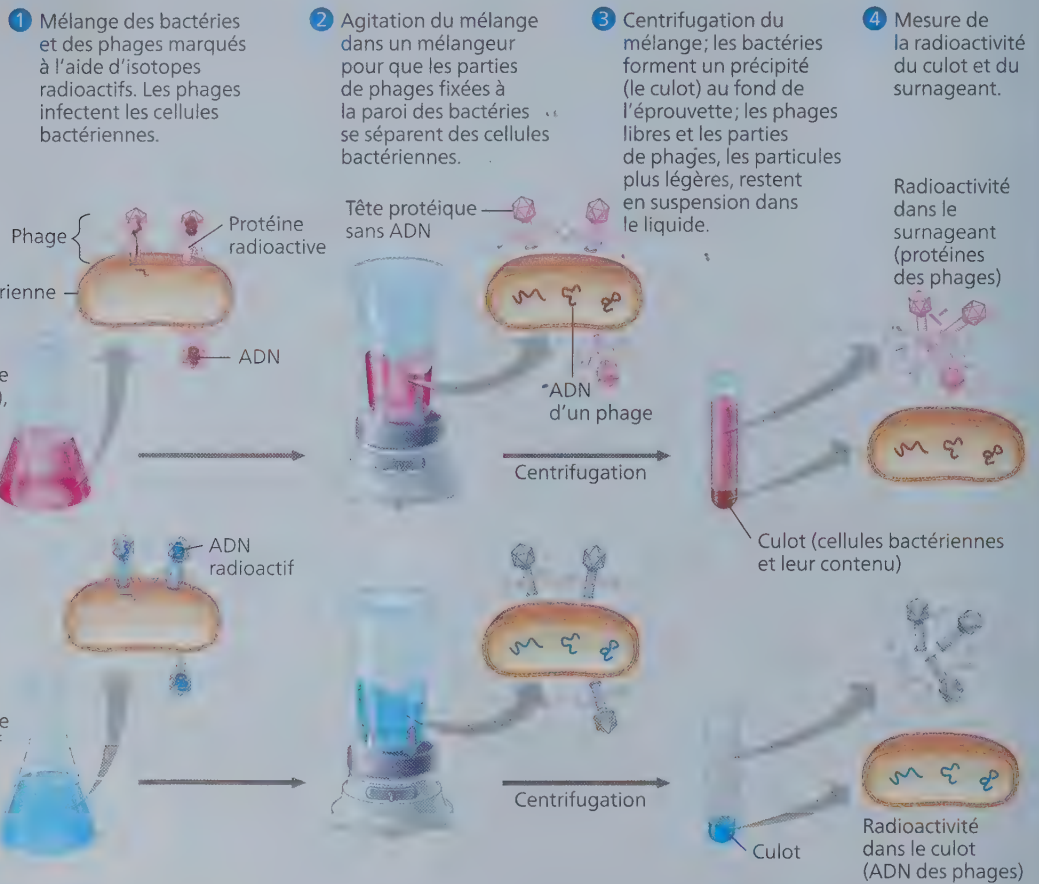
### Des preuves supplémentaires que l'ADN constitue le matériel génétique

Une autre preuve que le matériel génétique est formé d'ADN a été apportée par le biochimiste Erwin Chargaff. Depuis les années 1920, on savait que l'ADN est un polymère de nucléotides et que chaque nucléotide regroupe trois composants : une base azotée, un pentose (un glucide) appelé désoxyribose et un groupement phosphate (figure 16.5). On savait aussi que la base azotée pouvait être l'adénine (A), la thymine (T), la guanine (G) ou la cytosine (C). Mais on croyait alors que l'ADN portait des séquences constituées de différents arrangements des quatre nucléotides (*modèle des tétranucléotides* : par exemple, ATGC, TAGC, ATCG), et on ne voyait pas comment une telle structure pouvait porter toute l'information génétique. Chargaff a analysé la proportion des bases azotées présentes dans l'ADN de plusieurs organismes différents. En 1950, il a établi que la composition de l'ADN varie d'une espèce à l'autre. Par exemple, il a découvert la base A dans 32,8% des nucléotides de l'ADN de l'oursin vert, dans 30,4% des nucléotides de l'humain et dans seulement 24,7% des nucléotides de la bactérie *E. coli*. Cette preuve de la diversité moléculaire des espèces obtenue par Chargaff, que la plupart des scientifiques ne supposaient pas être une propriété de l'ADN, a permis de penser plus sérieusement que l'ADN pouvait constituer le matériel génétique.

**Le matériel génétique du phage T2 est-il constitué de protéines ou d'ADN?**

■ **HYPOTHÈSE** ■ Si ce sont bien les protéines qui constituent le matériel génétique, alors la transmission des gènes d'un phage devrait être associée à une incorporation, chez la bactérie qu'il infecte, de la radioactivité des protéines du phage préalablement marquées au soufre radioactif. Dans le cas où les gènes seraient plutôt constitués d'ADN, c'est le phosphate marqué qu'on retrouverait chez la bactérie infectée.

■ **EXPÉRIENCE** ■ Alfred Hershey et Martha Chase ont utilisé du soufre et du phosphore radioactifs pour marquer, respectivement, des protéines et de l'ADN de phages T2 qui infectaient des cellules bactériennes. Ils voulaient déterminer laquelle de ces molécules pénètre à l'intérieur des cellules et peut les reprogrammer pour produire d'autres phages.



**Milieu 1:** les phages sont cultivés en présence de soufre radioactif ( $^{35}\text{S}$ ), qui s'insère dans leurs protéines (en rose).

**Milieu 2:** les phages sont cultivés en présence de phosphore radioactif ( $^{32}\text{P}$ ), qui s'insère dans leur ADN (en bleu).

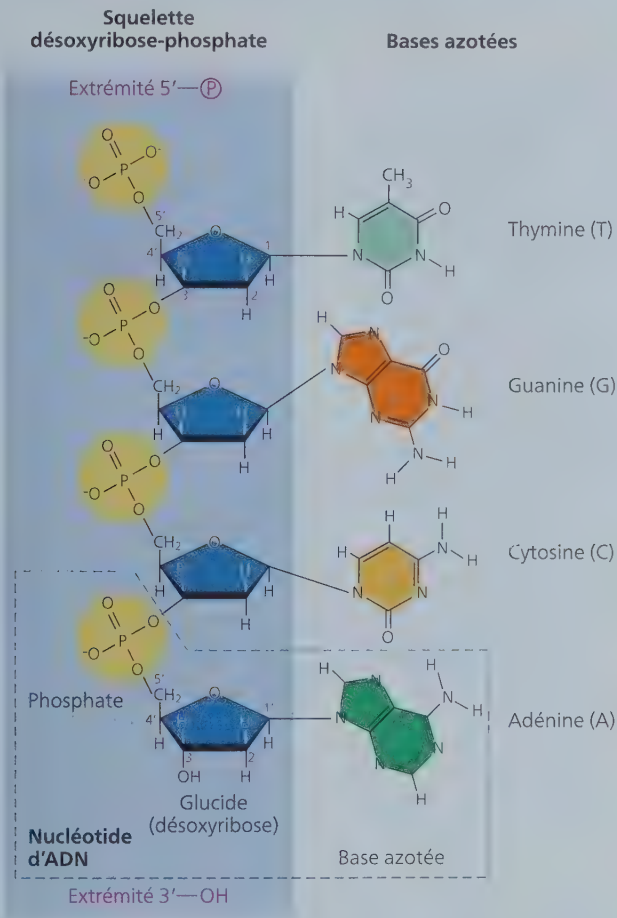
■ **RÉSULTATS** ■ Lorsque les protéines sont marquées (milieu 1), la radioactivité reste à l'extérieur des cellules; mais lorsque l'ADN est marqué (milieu 2), l'intérieur des cellules devient radioactif. Les cellules qui contiennent de l'ADN des phages radioactifs libèrent de nouveaux phages contenant un peu de phosphore radioactif.

■ **CONCLUSION** ■ L'ADN des phages a pénétré à l'intérieur des cellules bactériennes, mais les protéines des phages sont restées à l'extérieur. Hershey et Chase ont conclu que le matériel génétique des phages est constitué d'ADN et non de protéines.

**Source des données:** A. D. Hershey et M. Chase, Independent functions of viral protein and nucleic acid in growth of bacteriophage, *Journal of General Physiology* 36: 3956 (1952).

**ET SI ?** ► Quels résultats Hershey et Chase auraient-ils obtenus si les protéines contenaient les informations génétiques ?

▼ **Figure 16.5** La structure d'un brin d'ADN. Chaque nucléotide (monomère) d'ADN comporte une base azotée (T, A, C ou G), un glucide (désoxyribose, en bleu) et un groupement phosphate (en jaune). Le phosphate de chaque nucléotide est lié au glucide du nucléotide suivant par une liaison covalente. Le tout forme un «squelette» dans lequel alternent le phosphate et le désoxyribose et à partir duquel chacune des bases azotées fait saillie. Le brin du polynucléotide a un sens, à partir de l'extrémité 5'—P (qui porte le groupement phosphate) vers l'extrémité 3'—OH (qui porte le groupement —OH du désoxyribose). Les numéros 5' et 3' désignent les atomes de carbone du glucide.



Chargaff a aussi observé une certaine régularité dans les proportions des bases. Dans l'ADN de toutes les espèces étudiées, le nombre d'adénines était approximativement égal au nombre de thymines, et le nombre de guanines était à peu près égal au nombre de cytosines. L'analyse de Chargaff a révélé que dans l'ADN de l'oursin vert, par exemple, les quatre bases sont présentes selon les rapports suivants : A = 32,8 % et T = 32,1 % ; G = 17,7 % et C = 17,3 %. (Les pourcentages ne sont pas tout à fait les mêmes en raison des limites inhérentes aux techniques utilisées par Chargaff.)

Ces deux découvertes ont prouvé que l'ADN n'était pas formé selon le modèle des tétranucléotides, duquel aurait dû découler un rapport de 1:1:1:1 entre les quatre bases. Elles ont par la suite été appelées *règles de Chargaff*: (1) la composition des bases d'ADN varie d'une espèce à l'autre; (2) pour chaque espèce, le

nombre de bases A est sensiblement égal au nombre de bases T, d'une part, et le nombre de bases G est à peu près égal au nombre de bases C, d'autre part. Dans la rubrique **Habilités scientifiques**, vous pouvez utiliser les règles de Chargaff pour déterminer la composition en bases nucléotidiques. Les fondements de ces règles sont restés inexplicables jusqu'à la découverte de la double hélice.

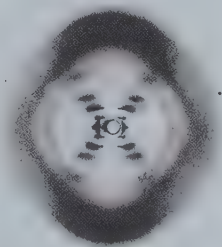
## La modélisation structurale de l'ADN: investigation

Une fois que les biologistes ont eu compris que l'ADN constituait bel et bien le matériel génétique, il leur a fallu déterminer de quelle manière sa structure pouvait expliquer son rôle dans l'hérédité. Au début des années 1950, on connaissait les constituants de base de l'ADN, la disposition des liaisons covalentes dans un polymère d'acide nucléique était bien définie (voir la figure 16.5), et les chercheurs s'efforçaient de découvrir la structure tridimensionnelle de l'ADN. De nombreux scientifiques étudiaient cette question, notamment Linus Pauling (un chimiste) au California Institute of Technology, ainsi que Maurice Wilkins (un biophysicien) et Rosalind Franklin (une chimiste) au King's College de Londres. Cependant, les premiers à avoir présenté la réponse complète sont deux chercheurs qui étaient relativement inconnus à l'époque, l'Américain James Watson (un biologiste et médecin) et l'Anglais Francis Crick (un biochimiste).

La collaboration célèbre, quoique de courte durée, qui a permis de résoudre l'énigme de la structure de l'ADN a commencé peu après l'arrivée de Watson à la Cambridge University, où Crick étudiait la structure des protéines au moyen d'une technique appelée cristallographie par diffraction de rayons X (voir la figure 5.21). En visitant le laboratoire de Maurice Wilkins au King's College de Londres, Watson a eu l'occasion d'observer une radiographie d'ADN par diffraction de rayons X prise par Rosalind Franklin, la collaboratrice douée de Wilkins (figure 16.6). La cristallographie par diffraction de rayons X ne permet pas de produire de véritables «images» des molécules. Les taches et les points que l'on voit dans la photo (à droite) ont été produits par des rayons X diffractés (déviés) au cours de leur passage à travers des fibres alignées d'ADN purifié. Watson connaissait déjà les motifs de diffraction de rayons X produits par les molécules hélicoïdales, et l'examen de la photo que lui a montrée Wilkins lui a permis de confirmer que la forme de l'ADN était hélicoïdale. Cette photo s'ajoutait également aux premiers résultats obtenus par Franklin et par d'autres chercheurs mettant en évidence la largeur de l'hélice ainsi que la distance entre les bases azotées



◀ **Figure 16.6** Rosalind Franklin et sa radiographie de l'ADN par diffraction de rayons X.



Utiliser des données dans un tableau

■ SI ON CONNAÎT LA PROPORTION D'UN TYPE DE NUCLÉOTIDE EN PARTICULIER DANS UN GÉNOME, POUVONS-NOUS PRÉVOIR QUELLE SERA CELLE DES TROIS AUTRES TYPES DE NUCLÉOTIDES ? ■

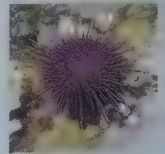
Même avant de connaître la structure de l'ADN, Erwin Chargaff et ses collaborateurs avaient remarqué un certain schéma dans la proportion des nucléotides de différentes espèces : le pourcentage de bases A (adénine) était sensiblement équivalent au pourcentage de bases T (thymine), et le pourcentage de bases C (cytosine) était à peu près équivalent au pourcentage de bases G (guanine). Par ailleurs, le pourcentage de chaque paire (A/T ou C/G) variait d'une espèce à l'autre. Nous savons maintenant que les rapports A/T et C/G (1:1) résultent de l'appariement complémentaire des bases A et T et des bases C et G dans la double hélice de l'ADN, et que les différences entre les espèces sont dues aux séquences uniques des bases le long d'un brin d'ADN. Dans cet exercice, vous utiliserez les règles de Chargaff pour déterminer la proportion des bases au sein d'un génome.

■ **MÉTHODE** ■ Dans ses expériences, Chargaff a extrait l'ADN d'espèces données, qu'il a ensuite hydrolysé afin de le décomposer en nucléotides. Il a ensuite effectué l'analyse chimique des nucléotides. Ces études ont permis d'estimer les valeurs pour chaque type de nucléotide. (Grâce au séquençage du génome entier, on peut aujourd'hui analyser la composition en bases directement à partir des données fournies par la séquence d'ADN.)

■ **RÉSULTATS** ■ Les tableaux sont utiles pour organiser des séries de données constituant un ensemble de valeurs (ici, la proportion des bases A, G, C et T) pour un nombre d'échantillons distincts (dans cette expérience, provenant de différentes espèces). On peut utiliser les schémas observés dans les données connues pour prévoir des valeurs inconnues. Le tableau présente les données complètes de la composition en bases de l'ADN de l'oursin vert et du saumon. Utilisez les règles de Chargaff pour compléter le tableau en y ajoutant les valeurs prévues.

Source de l'ADN	Pourcentage de base			
	Adénine	Guanine	Cytosine	Thymine
Oursin vert	32,8	17,7	17,3	32,1
Saumon	29,7	20,8	20,4	29,1
Blé	28,1	21,8	22,7	
<i>E. coli</i>	24,7	26,0		
Être humain	30,4			30,1
Bœuf	29,0			
<b>Moyenne (%)</b>				

**Source des données :** Différents articles de Chargaff, par exemple : E. Chargaff et coll., Composition of the desoxyribose nucleic acids of four genera of sea urchin, *Journal of Biological Chemistry* 195,155-160 (1952).



▲ Oursin vert.

**INTERPRÉTEZ LES DONNÉES ▼**

1. Expliquez comment les données de l'oursin vert et du saumon confirment les règles de Chargaff.
2. Utilisez les règles de Chargaff pour remplir le tableau en indiquant, pour chaque pourcentage de base manquant, la valeur prévue. Commencez par le génome du blé, puis poursuivez avec celui d'*E. coli*, de l'être humain et du bœuf. Expliquez la méthode utilisée pour obtenir ces résultats.
3. Si la règle de Chargaff – selon laquelle le pourcentage de bases A équivaut au pourcentage de bases T, et le pourcentage de bases C au pourcentage de bases G – est valable, il serait possible en théorie d'extrapoler cette règle à l'ADN de toutes les espèces présentes sur Terre (comme s'il s'agissait d'un énorme génome terrien). Afin de vérifier si les données du tableau confirment cette hypothèse, utilisez les données pour calculer le pourcentage moyen de chaque base en effectuant la moyenne des valeurs de chaque colonne. La règle d'équivalence de Chargaff est-elle vérifiée ?

alignées sur l'hélice. D'après le schéma de cette radiographie, on pouvait penser que l'hélice était constituée de deux brins, contrairement au modèle à trois brins proposé peu avant par Linus Pauling. Effectivement, l'ADN est constitué de deux brins, ce qui explique l'emploi de l'expression « double hélice », maintenant bien connue. La **figure 16.7** montre quelques-unes des différentes représentations de l'ADN.

En se basant sur les données obtenues grâce à la radiographie et sur ce que l'on connaissait de la chimie de l'ADN, dont la règle de Chargaff sur les équivalences des bases, Watson et Crick ont commencé à construire des modèles de double hélice. Grâce à la lecture d'un rapport annuel non publié résumant les travaux de Franklin, ils ont su à quelle conclusion elle en était arrivée : elle plaçait les squelettes désoxyribose-phosphate à l'extérieur de la double hélice, contrairement à leur maquette. La disposition proposée par Franklin était particulièrement intéressante, parce que les groupements phosphate de charges négatives étaient orientés vers le milieu aqueux, alors que les bases azotées,

plus hydrophobes, étaient situées à l'intérieur de la molécule. Watson a imaginé un modèle que présente la petite photo figurant à la première page de ce chapitre. Dans son modèle, il a disposé les deux squelettes désoxyribose-phosphate de façon **antiparallèle**, ce qui signifie que leurs sous-unités étaient orientées en sens opposé (voir la figure 16.7). Essayez d'imaginer la disposition de l'ensemble comme une échelle de corde pourvue de barreaux transversaux rigides. Les cordes représentent le squelette désoxyribose-phosphate, et les barreaux, les paires de bases azotées. Imaginez maintenant qu'on torde l'échelle pour former une spirale. La radiographie obtenue par Franklin indiquait que l'hélice fait un tour complet sur une longueur de 3,4 nm. Comme les bases sont espacées de 0,34 nm, chaque tour d'hélice porte 10 paires de bases (donc 10 barreaux) disposées les unes au-dessus des autres.

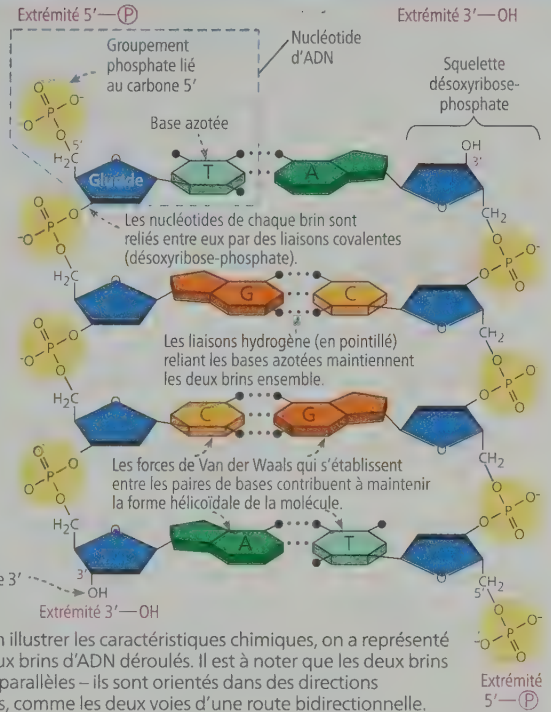
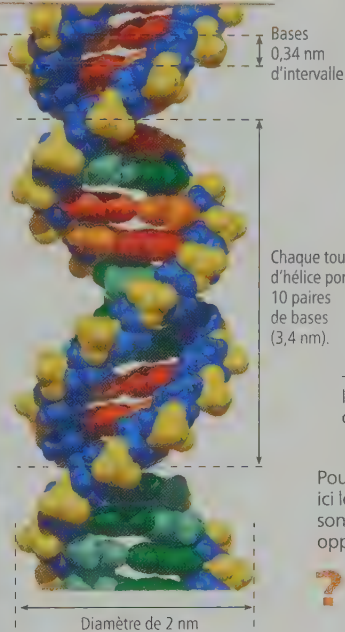
Les bases azotées de la double hélice s'apparient selon des combinaisons précises : l'adénine (A) s'associe toujours avec la thymine (T), et la guanine (G) avec la cytosine (C). C'est en

Même si on peut illustrer l'ADN de plusieurs façons, la structure fondamentale demeure la même dans tous les schémas. Le niveau de détails dépend du procédé utilisé et du type de renseignements que l'on désire illustrer.

### Images structurales

Ces images structurales montrent la forme tridimensionnelle de la double hélice de l'ADN (à gauche) ainsi que les caractéristiques chimiques de la structure de l'ADN (à droite). Dans les deux images, on utilise les mêmes couleurs pour les groupements phosphate (jaune), les glucides (désoxyribose; bleu) et les bases azotées (teintes de vert et d'orangé).

La double hélice de l'ADN est une spirale tournant vers la droite, comme le montre ce modèle compact et informatisé de l'ADN. Utilisez votre main droite, tel qu'illustré, pour suivre le squelette désoxyribose-phosphate le long de l'hélice (flèche rouge) jusqu'à l'arrière. Votre pouce pointe alors dans le sens du déplacement, c'est-à-dire vers le haut. (Il est impossible de le faire avec la main gauche.)

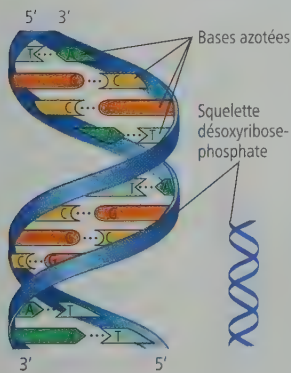


Pour bien illustrer les caractéristiques chimiques, on a représenté ici les deux brins d'ADN déroulés. Il est à noter que les deux brins sont antiparallèles — ils sont orientés dans des directions opposées, comme les deux voies d'une route bidirectionnelle.

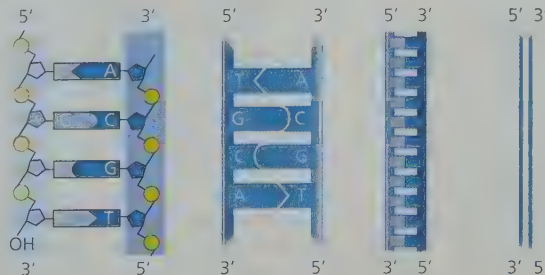
**?** 1. Décrivez les liaisons qui maintiennent ensemble les nucléotides dans un brin d'ADN. Comparez-les aux liaisons maintenant ensemble les deux brins d'ADN.

### Images simplifiées

Lorsqu'il n'est pas nécessaire de présenter les caractéristiques moléculaires, l'ADN est représenté sous forme de différents schémas simplifiés, selon le but recherché.



Dans ces schémas simplifiés de la double hélice, les « rubans » représentent les squelettes désoxyribose-phosphate.



Dans ces schémas illustrant l'ADN déroulé à plat sous la forme d'une échelle, les montants correspondent aux squelettes désoxyribose-phosphate et les barreaux représentent les paires de bases. La partie de l'échelle apparaissant en bleu clair permet de mettre en évidence les brins synthétisés récemment.

**?** 2. Comparez les renseignements présentés dans les trois diagrammes en forme d'échelle.

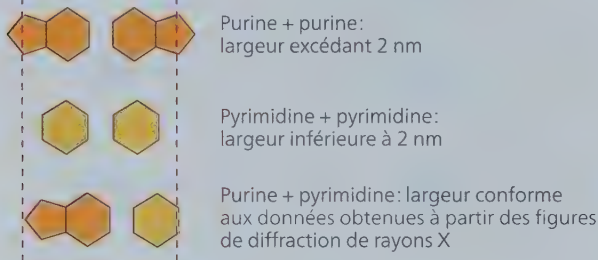
### Séquences d'ADN

L'information génétique contenue dans l'ADN est représentée sous forme de séquence linéaire de nucléotides qui peuvent être transcrits en ARNm et traduits en polypeptides. Lorsqu'on présente une séquence d'ADN, chaque nucléotide peut être indiqué simplement par la première lettre de sa base : A, T, C ou G.

3'—ACGTAAGCGGTTAAT—5'  
5'—TGCATTTCGCCAATTA 3'

Dans certains cas, on représente les deux brins de l'ADN par deux traits.

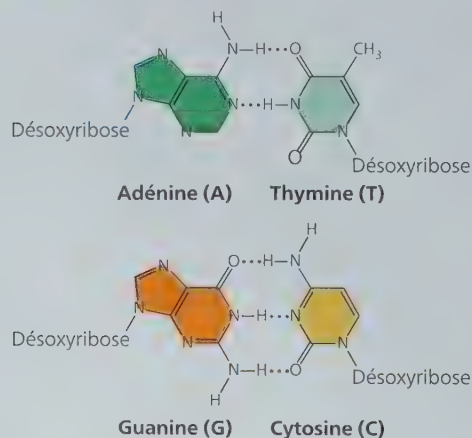
grande partie en procédant de façon empirique (par essais et erreurs) que Watson et Crick ont découvert cette caractéristique essentielle de l'ADN. Au départ, Watson pensait que les appariements se faisaient entre bases identiques (A avec A, C avec C, etc.). Cependant, cette disposition ne concordait pas avec les données obtenues à partir des figures de diffraction, qui montraient que la double hélice avait un diamètre uniforme. Pourquoi cela est-il incompatible avec un appariement entre des bases identiques ? Il faut savoir que l'adénine et la guanine sont des purines, c'est-à-dire des bases azotées constituées de deux cycles (anneaux) organiques, alors que la cytosine et la thymine sont des pyrimidines, soit des bases azotées ayant un seul cycle. La seule combinaison qui permet d'obtenir un diamètre uniforme de la double hélice exige donc l'appariement d'une purine et d'une pyrimidine :



Par ailleurs, Watson et Crick ont compris que l'appariement devait se faire en tenant compte d'une spécificité supplémentaire dictée par la structure des bases. Ainsi, chaque base comporte des atomes périphériques capables de former des liaisons hydrogène avec un atome complémentaire : l'adénine peut former deux liaisons hydrogène avec la thymine seulement ; quant à la guanine, elle peut former trois liaisons hydrogène avec la cytosine uniquement. Autrement dit, A s'apparie avec T, et G s'apparie avec C (figure 16.8).

Le modèle de Watson et Crick prenait en compte les règles de Chargaff et, en définitive, permettait de les expliquer. Partout où un brin de la molécule d'ADN porte un A, l'autre brin porte un T. De même, là où il y a un G sur un brin, il y a un C sur le brin complémentaire. Par conséquent, dans l'ADN de tout organisme, la quantité d'adénine est égale à celle de la thymine,

▼ **Figure 16.8** L'appariement des bases dans l'ADN.



et la quantité de guanine est égale à celle de la cytosine. Les techniques modernes de séquençage de l'ADN ont confirmé cette équivalence parfaite des quantités. Par ailleurs, si elles définissent les combinaisons entre les bases azotées formant les « barreaux » de la double hélice, les règles d'appariement des bases ne limitent en rien la séquence nucléotidique le long des « montants » de chaque brin d'ADN. Les quatre bases peuvent donc former une infinité de séquences linéaires, et chaque gène a une séquence de bases qui lui est propre.

En avril 1953, Watson (24 ans) et Crick (35 ans) ont fait sensation dans le monde scientifique en publiant un article d'une seule page présentant un modèle moléculaire de l'ADN : une double hélice, qui est devenue depuis le symbole même de la biologie moléculaire. Watson et Crick ont reçu le prix Nobel en 1962, en même temps que Maurice Wilkins. (Malheureusement, Rosalind Franklin est morte à 37 ans, en 1958, et n'était donc pas admissible pour le prix.) Le modèle de la double hélice était d'autant plus convaincant que sa structure laissait entrevoir le mécanisme général de réplication de l'ADN.

## RETOUR SUR LE CONCEPT 16.1

1. Sachant que la séquence d'un polynucléotide est GAATC, de quelle information supplémentaire avez-vous besoin pour identifier l'extrémité 5'—(P) ? (Voir la figure 16.5.)
2. **HABILÉTÉS VISUELLES** ► Griffith tentait de mettre au point un vaccin contre *S. pneumoniae* lorsqu'il a eu la surprise de découvrir le phénomène de la transformation bactérienne. Examinez la figure 16.2. D'après ce que vous observez, à quel résultat Griffith s'attendait-il après l'injection des cellules R avec les cellules S mortes ? Expliquez votre réponse.

Voir les réponses proposées à l'appendice A.

## CONCEPT 16.2

### De nombreuses protéines travaillent de concert pour la réplication et la réparation de l'ADN

La relation entre la structure et la fonction apparaît clairement dans la double hélice. L'idée de la formation d'appariements spécifiques entre les bases azotées a amené Watson et Crick à découvrir la structure. Du même coup, ils ont compris la signification fonctionnelle de la règle d'appariement des bases. Ils ont conclu leur article, devenu un classique, par cette affirmation audacieuse : « Nous avons aussi remarqué que les appariements spécifiques que nous avons postulés permettent d'entrevoir directement un mécanisme possible de recopiage du matériel génétique\* ». Dans la section qui suit, nous allons voir le principe général de la réplication de l'ADN, puis nous nous pencherons sur certains aspects importants de ce processus.

\* Traduit de J. D. Watson et F. H. C. Crick, Molecular structure of nucleic acids: A structure for deoxyribose nucleic acids, *Nature* 171 : 737-738 (1953).

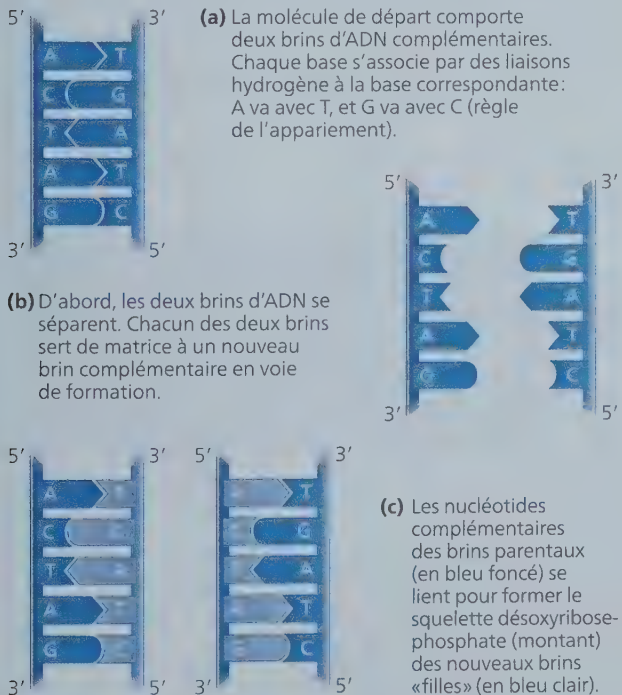
## Le principe fondamental: l'appariement des bases azotées à un brin matrice

Dans un deuxième article, Watson et Crick ont résumé leur hypothèse concernant la réplication de l'ADN :

« Notre modèle de l'acide désoxyribonucléique est un assemblage de deux matrices complémentaires. Selon nous, avant la réplication, les liaisons hydrogène sont rompues. Les deux chaînes se déroulent alors et se séparent. Chacune agit comme une matrice : il se forme le long d'elle une nouvelle chaîne qui lui est associée, de sorte qu'on se retrouve avec deux paires de chaînes là où, au départ, il n'y en avait qu'une. De plus, la séquence des paires de bases est ainsi reproduite de façon exacte\* . »

La **figure 16.9** illustre le concept de base mis de l'avant par Watson et Crick. Pour plus de clarté, nous n'avons représenté qu'une toute petite portion de la double hélice déroulée. Remarquez que, si l'on couvre l'un des deux brins d'ADN de la figure 16.9a, il est possible de déduire sa séquence linéaire de nucléotides en se référant à l'autre brin et en appliquant la règle de l'appariement. Les deux brins sont complémentaires, et chacun d'eux contient l'information qui permet de reconstruire l'autre. Lorsqu'une cellule copie une molécule d'ADN, chaque brin agit comme une matrice sur laquelle viennent se placer des nucléotides déjà synthétisés sous forme de nucléosides triphosphates (nous en reparlerons plus loin), présents en abondance

▼ **Figure 16.9** Le modèle de réplication de l'ADN, concept de base. Cette illustration simplifiée montre un court segment d'ADN déroulé. Les quatre bases sont représentées symboliquement par des formes géométriques simples. Les brins colorés en bleu foncé appartiennent à la molécule mère; l'ADN nouvellement synthétisé est en bleu clair.



\* Traduit de J. D. Watson et F. H. C. Crick, Genetical implications of the structure of deoxyribonucleic acid, *Nature* 171 : 964-967 (1953).

dans le milieu. Ces nucléosides s'alignent un par un, en suivant la règle de l'appariement ; ils sont ensuite liés, et le brin complémentaire est achevé. Alors qu'au début du processus il y avait une seule molécule formée de deux brins d'ADN, il y en a maintenant deux, qui sont des répliques exactes l'une de l'autre et de la molécule de départ. Le mécanisme de copie est analogue à l'utilisation d'un négatif photographique pour former une image positive, qui peut à son tour permettre de reproduire un autre négatif, et ainsi de suite.

Ce modèle de la réplication de l'ADN n'a été testé que plusieurs années après la publication du modèle de la structure de l'ADN. Les expériences à réaliser étaient simples à concevoir, mais difficiles à mettre en œuvre. Selon le modèle de Watson et Crick, une fois que la réplication de la double hélice est terminée, chacune des deux molécules filles doit être formée d'un ancien brin (provenant de la molécule de départ) et d'un nouveau brin. On peut opposer ce **modèle semi-conservateur** au modèle conservateur de réplication, qui impliquerait que les deux brins parentaux s'appariaient de nouveau après le processus (donc que la molécule de départ soit conservée). D'après un troisième modèle appelé modèle dispersif, les quatre brins d'ADN issus de la réplication de la double hélice seraient formés d'un mélange de nouveau et d'ancien ADN (**figure 16.10**).

▼ **Figure 16.10** La réplication de l'ADN: trois modèles différents.

Chaque court segment de double hélice que nous montrons ici représente l'ADN dans une cellule. À partir d'une cellule mère, on suit l'ADN parental durant deux générations cellulaires, soit deux réplifications du matériel génétique. L'ADN parental est coloré en bleu foncé; l'ADN nouvellement synthétisé est coloré en bleu clair.



Bien qu'il ait été difficile de concevoir le fonctionnement des modèles conservateur ou dispersif de réplication de l'ADN, ces deux dernières hypothèses sont longtemps demeurées plausibles. Ce n'est qu'après deux ans de travaux préliminaires à la fin des années 1950 que Matthew Meselson et Franklin Stahl, alors au California Institute of Technology, ont conçu une expérience ingénieuse permettant de distinguer les trois modèles, décrits en détail à la **figure 16.11**. Cette expérience est largement reconnue parmi les biologistes comme un exemple classique de conception élégante. Elle a confirmé l'exactitude du modèle semi-conservateur de Watson et Crick chez les procaryotes (on a prouvé que ce modèle s'appliquait aussi aux eucaryotes en 1960).

Le principe de base de la réplication de l'ADN semble plutôt simple. Cependant, ce mécanisme fait intervenir des processus biochimiques complexes, comme nous allons le voir.

## La réplication de l'ADN: une étude détaillée

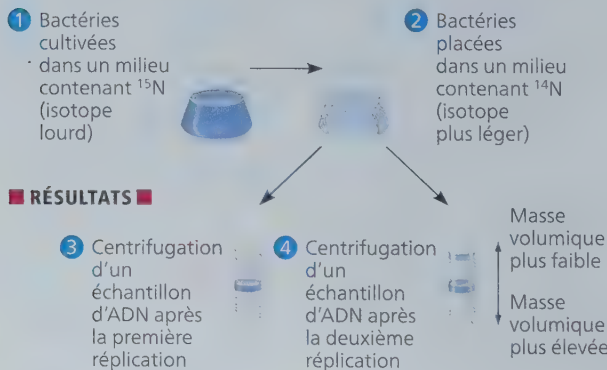
La bactérie *E. coli* possède un seul chromosome d'environ 4,6 millions de paires de nucléotides. Dans un milieu favorable, une cellule d'*E. coli* peut copier tout son ADN, se diviser et former deux cellules filles génétiquement identiques en bien moins d'une heure. Chacune de nos cellules somatiques comprend 46 molécules d'ADN, soit une longue molécule hélicoïdale à double brin par chromosome. En tout, on estime que le génome humain comporte environ 6 milliards de paires de nucléotides, ce qui équivaut à peu près à 1 000 fois plus d'ADN que dans la plupart des cellules bactériennes. Si l'on voulait représenter toutes les paires de bases d'une seule cellule humaine par des lettres (A, G, C et T) de la taille des caractères que vous lisez en ce moment, il faudrait imprimer environ 1 400 manuels de biologie comme celui-ci. Il suffit pourtant de

### DÉMARCHE SCIENTIFIQUE INVESTIGATION

#### La réplication de l'ADN suit-elle le modèle conservateur, semi-conservateur ou dispersif ?

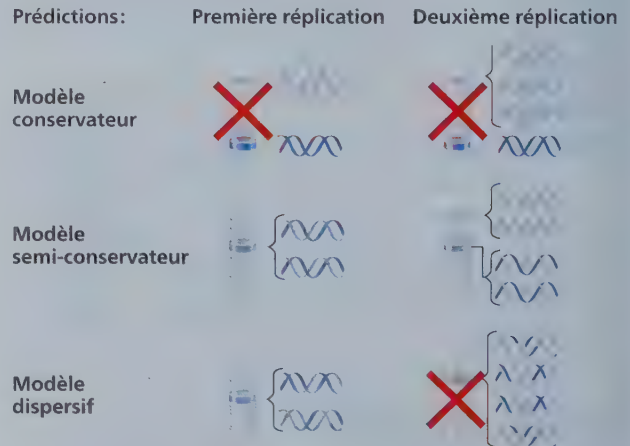
■ **HYPOTHÈSE** ■ Si l'ADN se réplique selon le modèle conservateur, une des cellules filles contiendra les deux brins d'ADN parental restés ensemble, tandis que l'autre cellule fille contiendra les deux brins nouvellement synthétisés. Un cycle de réplication devrait donc produire des proportions égales de cellules à ADN marqué et de cellules comportant l'ADN original. Si c'est le modèle semi-conservateur qui prévaut, toutes les cellules filles devraient être mixtes, c'est-à-dire comporter un brin d'ADN original et un brin marqué.

■ **EXPÉRIENCE** ■ Matthew Meselson et Franklin Stahl ont cultivé plusieurs générations de bactéries *E. coli* dans un milieu contenant des nucléotides précurseurs marqués à l'aide d'un isotope lourd de l'azote,  $^{15}\text{N}$ . Puis ils ont placé les bactéries, dont les bases azotées avaient incorporé l'azote  $^{15}\text{N}$ , dans un milieu contenant un isotope plus léger de l'azote,  $^{14}\text{N}$ . Après la première réplication de l'ADN, les chercheurs ont prélevé un échantillon de bactéries; puis, après une deuxième réplication, ils en ont prélevé un autre. Ils ont ensuite extrait l'ADN de ces deux échantillons, ont mis les extraits ainsi obtenus dans des solutions de sel dense (chlorure de césium), puis les ont centrifugés pour séparer l'ADN de différentes masses volumiques.



#### ■ RÉSULTATS ■

■ **CONCLUSION** ■ Meselson et Stahl ont comparé leur résultat aux résultats prévus selon chacun des trois modèles de la figure 16.10, comme nous le montrons ci-dessous. La première réplication effectuée dans le milieu  $^{14}\text{N}$  a produit une bande d'ADN hybride ( $^{15}\text{N}^{14}\text{N}$ ), ce qui a permis d'éliminer le modèle conservateur. La deuxième réplication a produit à la fois un ADN léger et un ADN hybride, ce qui a permis de réfuter le modèle dispersif et a confirmé l'exactitude du modèle semi-conservateur. Ils ont alors conclu que la réplication de l'ADN suit le modèle semi-conservateur.



**Source des données:** M. Meselson et F. W. Stahl, The replication of DNA in *Escherichia coli*, *Proceedings of the National Academy of Sciences* 44: 671-682 (1958).

**ET SI ?** ► Quels résultats Meselson et Stahl auraient-ils obtenus après chacune des réplications s'ils avaient d'abord cultivé les cellules dans un milieu contenant l'isotope  $^{14}\text{N}$ , puis avaient placé ces cellules dans un milieu contenant  $^{15}\text{N}$  avant de prélever des échantillons ?

quelques heures à l'une de nos cellules pour recopier tout son ADN pendant la phase S de l'interphase. La réplication de cette énorme quantité d'information génétique se fait avec très peu d'erreurs (environ 1 par 10 milliards de nucléotides). La réplication de l'ADN s'effectue donc avec une rapidité et une précision remarquables.

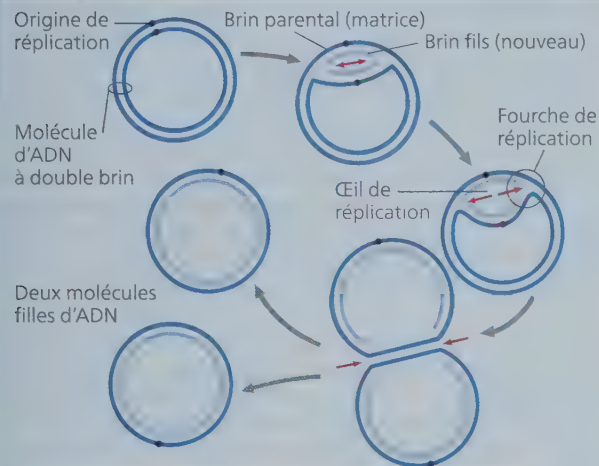
Plus d'une douzaine d'enzymes et d'autres protéines interviennent dans la réplication de l'ADN. Le fonctionnement de cette « machine à répliquer » est mieux connu chez les bactéries (comme *E. coli*) que chez les eucaryotes. Sauf indications contraires, nous décrivons donc les principales étapes de ce processus chez *E. coli*. Cependant, d'après ce que les scientifiques ont appris sur la réplication de l'ADN chez les eucaryotes, il semble que ce processus soit essentiellement le même que chez les procaryotes.

## Le point de départ

La réplication d'une molécule d'ADN chromosomique commence sur des sites particuliers, appelés **origines de réplication** ; il s'agit de courts segments d'ADN ayant une séquence nucléotidique spécifique. Comme de nombreux autres chromosomes bactériens, celui d'*E. coli* est circulaire et a une seule origine de réplication, soit une séquence particulière de 245 paires de nucléotides, appelée *oriC*, et comportant de nombreuses paires AT ; les deux brins d'ADN se séparent plus facilement à cet endroit, car il est plus facile de briser les deux liaisons hydrogène entre A et T que les trois liaisons hydrogène entre G et C. Des protéines de réplication reconnaissent cette séquence et amorcent la réplication de l'ADN. Elles s'attachent à celui-ci et séparent les deux brins en formant un « œil » de réplication (figure 16.12a). La réplication se poursuit alors dans les deux sens, jusqu'à ce que toute

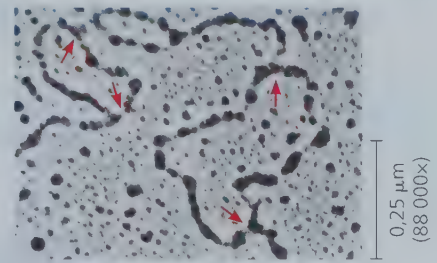
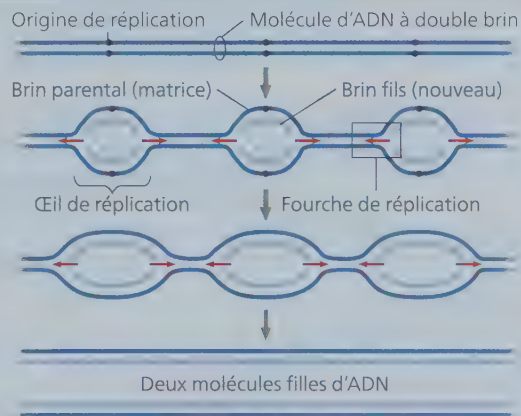
▼ **Figure 16.12** Les origines de réplication chez *E. coli* et chez les eucaryotes. Les flèches rouges (dans le schéma et dans la micrographie) montrent le mouvement des fourches de réplication, ce qui indique le sens général de la réplication de l'ADN à l'intérieur de chaque œil de réplication.

### (a) Origine de réplication dans une cellule d'*E. coli*



Le chromosome circulaire d'*E. coli* et celui d'autres bactéries contiennent une seule origine de réplication sur leur chromosome circulaire. Les brins parentaux se séparent à cet endroit en formant un œil de réplication avec deux fourches (flèches rouges). La réplication progresse dans les deux sens jusqu'à ce que les fourches se rejoignent de l'autre côté du chromosome de départ, ce qui donne deux molécules filles d'ADN. La MET montre un chromosome bactérien avec un œil de réplication.

### (b) Origines de réplication dans une cellule chez les eucaryotes



Dans le chromosome d'un eucaryote, la réplication de l'ADN commence quand un œil de réplication se forme sur de nombreux sites le long de la molécule géante d'ADN linéaire, pendant la phase S de l'interphase. La réplication progresse dans les deux sens (flèches rouges) en étirant l'œil de réplication. Un œil de réplication finit par fusionner avec le suivant, et ainsi de suite jusqu'à atteindre les extrémités de la molécule, ce qui met fin à la synthèse des nouveaux brins. Sur cette micrographie de l'ADN de cellules de hamster chinois (*Cricetulus griseus*), on peut voir trois exemplaires d'un œil de réplication.

**FAITES UN DESSIN** ► Dans la micrographie (MET) de la partie (b), ajoutez des flèches dans les fourches du troisième œil de réplication.

la molécule ait été recopiée. Contrairement au chromosome bactérien, un chromosome d'eucaryote, qui est linéaire, peut avoir des centaines voire des milliers d'origines de réplication (jusqu'à 100 000 dans une cellule humaine) : la réplication d'un chromosome eucaryote ne débute donc pas à une de ses extrémités comme on pourrait l'imaginer. L'origine de réplication ainsi que le segment d'ADN qui est répliqué à partir de ce point forment un œil de réplication (chez la bactérie, il n'y en a qu'un seul par cellule). Tout œil de réplication eucaryote finit par fusionner avec l'œil voisin, ce qui accélère le recopiage des molécules d'ADN qui sont très longues (figure 16.12b). Comme chez les bactéries, la réplication de l'ADN chez les eucaryotes se poursuit dans les deux sens à partir de chaque origine.

Chaque extrémité d'un œil de réplication prend la forme d'une **fourche de réplication**, c'est-à-dire d'une région en forme de Y où les deux brins d'ADN sont déroulés. Plusieurs types de protéines participent au déroulement (figure 16.13). C'est dans l'angle de la fourche de réplication qu'agissent les **hélécases** : ces enzymes déroulent la double hélice, rompent les liaisons hydrogène entre les bases azotées à l'aide de l'énergie fournie par l'hydrolyse de l'ATP, et séparent les deux brins parentaux, ce qui les rend disponibles pour servir de brins matrices. Après la séparation des deux brins parentaux par l'hélicase, les **protéines fixatrices d'ADN monocaténaire** (ou protéines SSB, *single-strand binding proteins*) s'attachent aux brins d'ADN non appariés et les empêchent de s'enrouler à nouveau jusqu'à ce qu'ils servent de matrices pour la synthèse de nouveaux brins complémentaires. Ce déroulement de la double hélice cause des torsions importantes et une tension en amont de la fourche de réplication, comme si on déroulait une corde à deux brins dont l'une des extrémités serait fixée, en écartant les deux bouts libres. C'est l'**ADN gyrase**, une enzyme **topo-isomérase**

(«topo», car elle agit sur la topologie de l'ADN), qui fait diminuer cette tension : elle effectue des coupures, fait pivoter les brins d'ADN puis répare les coupures.

### La synthèse d'un nouveau brin

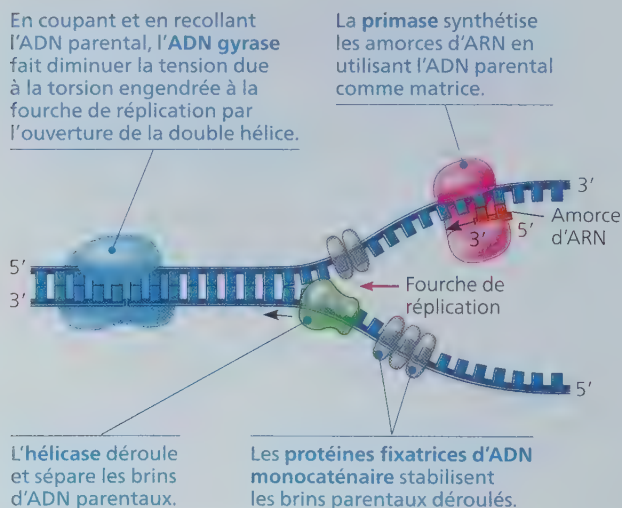
Les sections déroulées des brins d'ADN parentaux peuvent alors servir de matrices pour la synthèse de nouveaux brins d'ADN complémentaires. Cependant, les enzymes qui synthétisent l'ADN sont incapables d'**amorcer** la synthèse d'un polynucléotide. Elles ne peuvent qu'ajouter des nucléotides à l'extrémité 3'—OH d'une chaîne préexistante déjà appariée avec les bases du brin matrice. Lors de l'initiation de la réplication de l'ADN cellulaire, c'est en fait un court segment d'ARN, et non d'ADN, qui permet d'amorcer la synthèse du brin complémentaire à la matrice. Cette courte chaîne d'ARN, appelée **amorce**, est synthétisée par une enzyme appelée **primase** (de l'anglais *primer* qui signifie «amorce») (voir la figure 16.13). La primase, qui ne nécessite pas la présence d'une extrémité 3' libre, peut entamer la synthèse d'une chaîne d'ARN complémentaire à partir d'un seul nucléotide d'ARN ; elle ajoute les nucléotides de l'ARN un par un, en se servant du brin d'ADN parental comme matrice. L'amorce complétée, généralement d'une longueur de 5 à 10 nucléotides, est donc appariée avec les bases du brin matrice. L'initiation d'un nouveau brin d'ADN va se produire à l'extrémité 3'—OH de cette amorce.

Des enzymes appelées **ADN polymérases** catalysent la synthèse du nouveau brin d'ADN en ajoutant des nucléotides à l'extrémité 3'—OH de la chaîne préexistante. Chez *E. coli*, il existe cinq ADN polymérases différentes, mais deux d'entre elles semblent jouer des rôles importants dans la réplication de l'ADN : l'ADN polymérase III, présente en faible quantité, et l'ADN polymérase I, très abondante. (La découverte de l'ADN polymérase I est l'œuvre d'Arthur Kornberg en 1958, ce qui lui valut un prix Nobel en 1959.) La situation est plus complexe chez les eucaryotes, car ils peuvent posséder 11 types de polymérases différentes (dont une au moins est spécifique à la mitochondrie), mais, tout comme chez les procaryotes, 2 types de polymérases en particulier ( $\delta$  et  $\epsilon$ ) jouent un rôle important dans la réplication de l'ADN. Notons que les principes généraux de la réplication restent les mêmes pour les deux types cellulaires.

La plupart des ADN polymérases nécessitent une amorce et un brin matrice le long duquel les nucléotides de l'ADN complémentaire s'alignent. Chez *E. coli*, l'ADN polymérase III (ADN pol III) ajoute alors un nucléotide de l'ADN à l'extrémité de l'amorce et continue d'incorporer des nucléotides complémentaires du brin matrice de l'ADN parental au nouveau brin d'ADN en croissance. La vitesse d'élongation est d'environ 500 nucléotides par seconde chez les bactéries et de 50 par seconde dans les cellules humaines.

Chaque nucléotide qui s'ajoute à un brin d'ADN en voie de formation est composé d'un glucide lié à une base et de trois groupements phosphate. Ces molécules ressemblent à l'ATP (adénosine triphosphate ; voir la figure 8.9). En fait, l'ATP (qui alimente le métabolisme énergétique) ne diffère du désoxyATP (ou dATP, le nucléotide adénine utilisé pour produire l'ADN) que par son glucide. L'ATP se compose de ribose, alors que l'ADN contient du désoxyribose. Comme l'ATP, les nucléotides intervenant dans la synthèse de l'ADN sont chimiquement actifs, en partie parce que leur queue triphosphate contient un regroupement instable de charges négatives. L'ADN polymérase catalyse

▼ **Figure 16.13** Quelques protéines jouant un rôle dans la réplication de l'ADN. Les mêmes protéines (il y en a une trentaine chez *E. coli*) fonctionnent aux deux fourches de réplication dans un œil de réplication. Afin de simplifier le schéma, nous ne représentons ici que la fourche de gauche, et les bases de l'ADN qui figurent dans l'illustration sont beaucoup plus petites en réalité, comparativement aux protéines qui s'y fixent.



l'ajout de chaque monomère nucléotidique par une réaction de déshydratation (voir la figure 5.2a). En se fixant à l'extrémité du brin d'ADN en cours de synthèse, chaque monomère perd deux groupements phosphate sous la forme d'une molécule de pyrophosphate ( $\text{P} - \text{P}$ ). L'hydrolyse subséquente du pyrophosphate en deux molécules de phosphate inorganique ( $\text{P}$ ) constitue une réaction exergonique couplée. Celle-ci fournit l'énergie nécessaire à la polymérisation des nucléotides menant à la formation de l'ADN (figure 16.14).

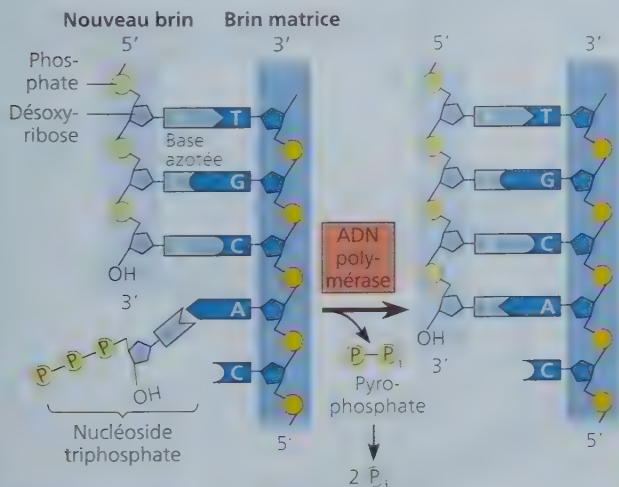
### L'élongation antiparallèle

Nous avons déjà signalé que les deux extrémités d'un brin d'ADN sont différentes, donnant à chaque brin une directionnalité, comme une rue à sens unique (voir la figure 16.5). De plus, les deux brins dans la double hélice d'ADN sont antiparallèles, ce qui signifie qu'ils ont des directions opposées comme les deux voies d'une route bidirectionnelle (voir la figure 16.14). Par conséquent, les deux nouveaux brins formés durant la réplication doivent aussi être antiparallèles à leur brin complémentaire.

L'arrangement antiparallèle de la double hélice, conjointement avec une certaine propriété des ADN polymérase, impose une contrainte importante sur la façon dont la réplication a lieu. À cause de leur structure, les ADN polymérase peuvent ajouter des nucléotides seulement à l'extrémité libre 3' d'une amorce ou d'un brin d'ADN en croissance, jamais à l'extrémité 5'— $\text{P}$  (voir la figure 16.14). Par conséquent, le nouveau brin ne peut s'allonger que dans le sens 5' → 3'. Revenons maintenant à l'une des deux fourches de réplication dans un œil de réplication (figure 16.15). L'ADN pol III peut synthétiser un brin complémentaire continu à partir d'une origine de réplication, le long du brin matrice. L'élongation du nouvel ADN se fait nécessairement dans le sens 5' → 3'. L'ADN pol III reste dans la

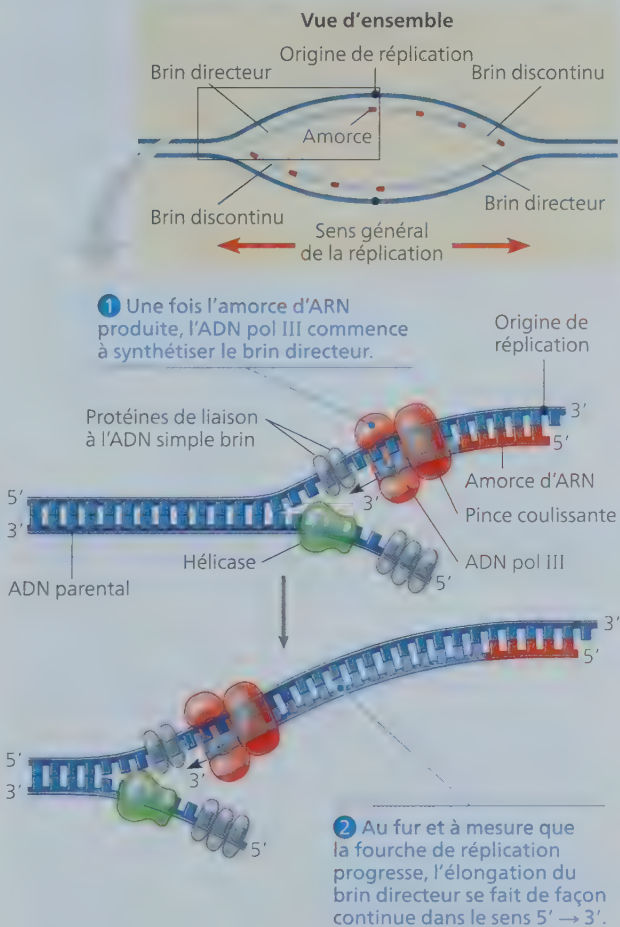
### ▼ Figure 16.14 L'ajout d'un nucléotide à un brin d'ADN.

L'ADN polymérase catalyse l'addition d'un nucléotide qui se lie à l'extrémité 3'—OH d'un brin d'ADN en cours de synthèse avec libération de deux groupements phosphate.



**HABILETÉS VISUELLES** ► Utilisez ce schéma pour expliquer ce que l'on veut dire quand on affirme que chaque brin d'ADN possède une directionnalité.

▼ **Figure 16.15 La synthèse du brin directeur pendant la réplication de l'ADN.** Le diagramme met l'accent sur la fourche de réplication de gauche illustrée dans la vue d'ensemble au haut de la figure. L'ADN polymérase III (ADN pol III), qui a la forme du creux de la main, est montrée étroitement liée à une protéine appelée « pince coulissante » (*sliding clamp* en anglais) qui encerce comme un beigne la double hélice nouvellement synthétisée. La pince coulissante aide au déplacement de l'ADN pol III le long de la matrice d'ADN. En maintenant l'enzyme bien positionnée sur l'ADN, cette pince augmente la longueur de l'ADN pouvant être synthétisé de façon continue.



fourche de réplication, sur le brin qui sert de matrice, et elle continue d'ajouter un nucléotide après l'autre au brin complémentaire à mesure que la fourche se déplace. Le brin d'ADN ainsi synthétisé est appelé **brin directeur** (ou parfois *brin avancé* ou encore *brin précoce*). L'ADN pol III n'a besoin que d'une seule amorce pour synthétiser le brin directeur (voir la figure 16.15).

L'élongation de l'autre brin d'ADN en croissance, dans le sens 5' → 3', se fait différemment. L'ADN pol III doit suivre la matrice en s'éloignant de la fourche de réplication. Le brin d'ADN ainsi formé est appelé **brin discontinu** (ou parfois *brin tardif* ou encore *brin retardé*). Contrairement au brin directeur, son élongation ne se réalise pas de manière continue : de courts segments sont synthétisés, avant d'être reliés par une enzyme. On appelle ces segments **fragments d'Okazaki**, du nom du scientifique

japonais, Reiji Okazaki, qui les a découverts. Chacun a une longueur de 1 000 à 2 000 nucléotides chez *E. coli*, et de 100 à 200 nucléotides chez les eucaryotes.

La **figure 16.16** illustre les étapes de la synthèse du brin discontinu à une fourche. Il suffit d'une seule amorce pour que l'ADN pol III puisse commencer la synthèse d'un nouveau brin directeur. Par contre, dans le cas des brins discontinus, il faut une amorce pour chaque fragment d'Okazaki (étapes 1 et 4). Après la formation d'un fragment d'Okazaki par l'ADN pol III (étapes 2 à 4), une autre polymérase, l'ADN polymérase I (ADN pol I), remplace ensuite les nucléotides d'ARN de chaque amorce, un à la fois, par leur équivalent en ADN (étape 5). Mais l'ADN pol I est incapable de lier le nucléotide final de ce fragment d'ADN de remplacement au premier nucléotide d'ADN du fragment d'Okazaki suivant. Une autre enzyme, l'**ADN ligase**, accomplit la tâche qui consiste à relier les squelettes désoxyribose-phosphate de tous les fragments d'Okazaki en un brin d'ADN continu (étape 6).

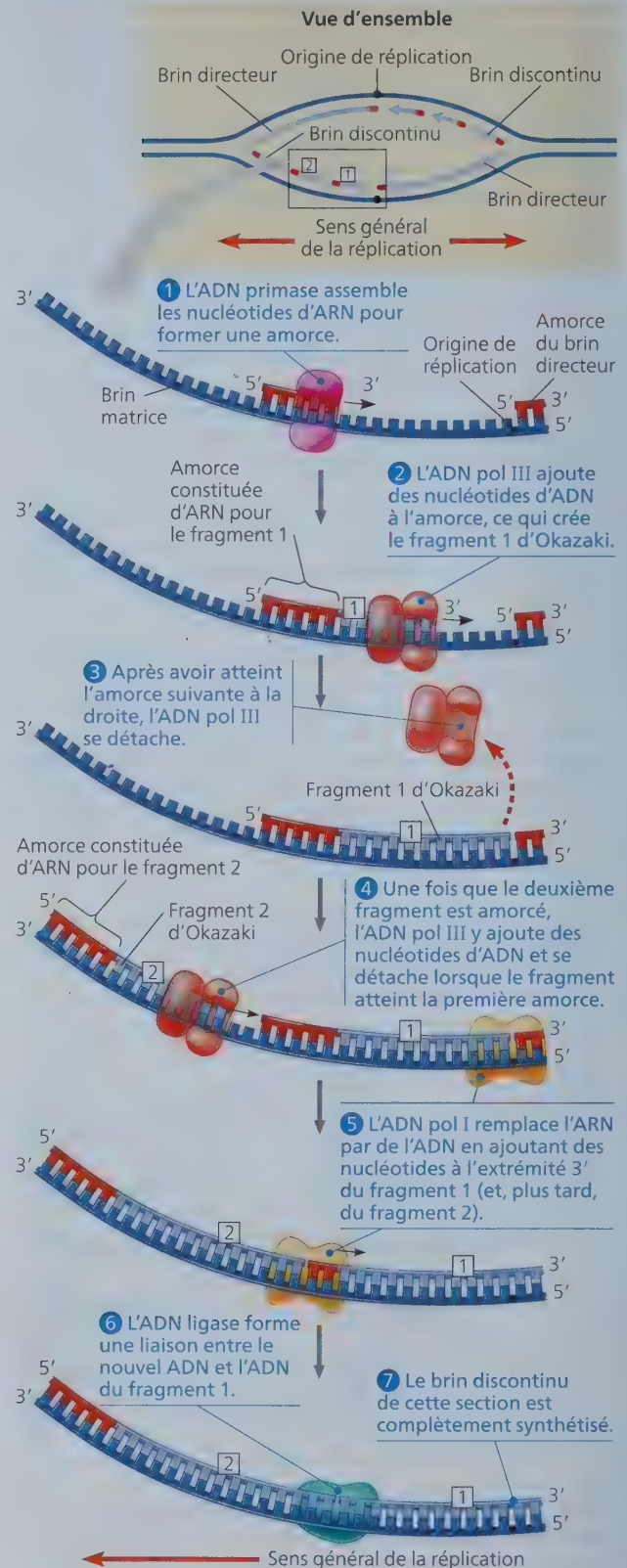
La synthèse du brin directeur et celle du brin discontinu se produisent simultanément et à la même vitesse. Cependant, la synthèse du brin discontinu est légèrement décalée par rapport à celle du brin directeur; la formation d'un nouveau fragment du brin discontinu commence seulement lorsqu'une longueur suffisante de matrice a été exposée à la fourche de réplication.

La **figure 16.17** et le **tableau 16.1** résument la réplication de l'ADN. Étudiez-les attentivement avant de continuer.

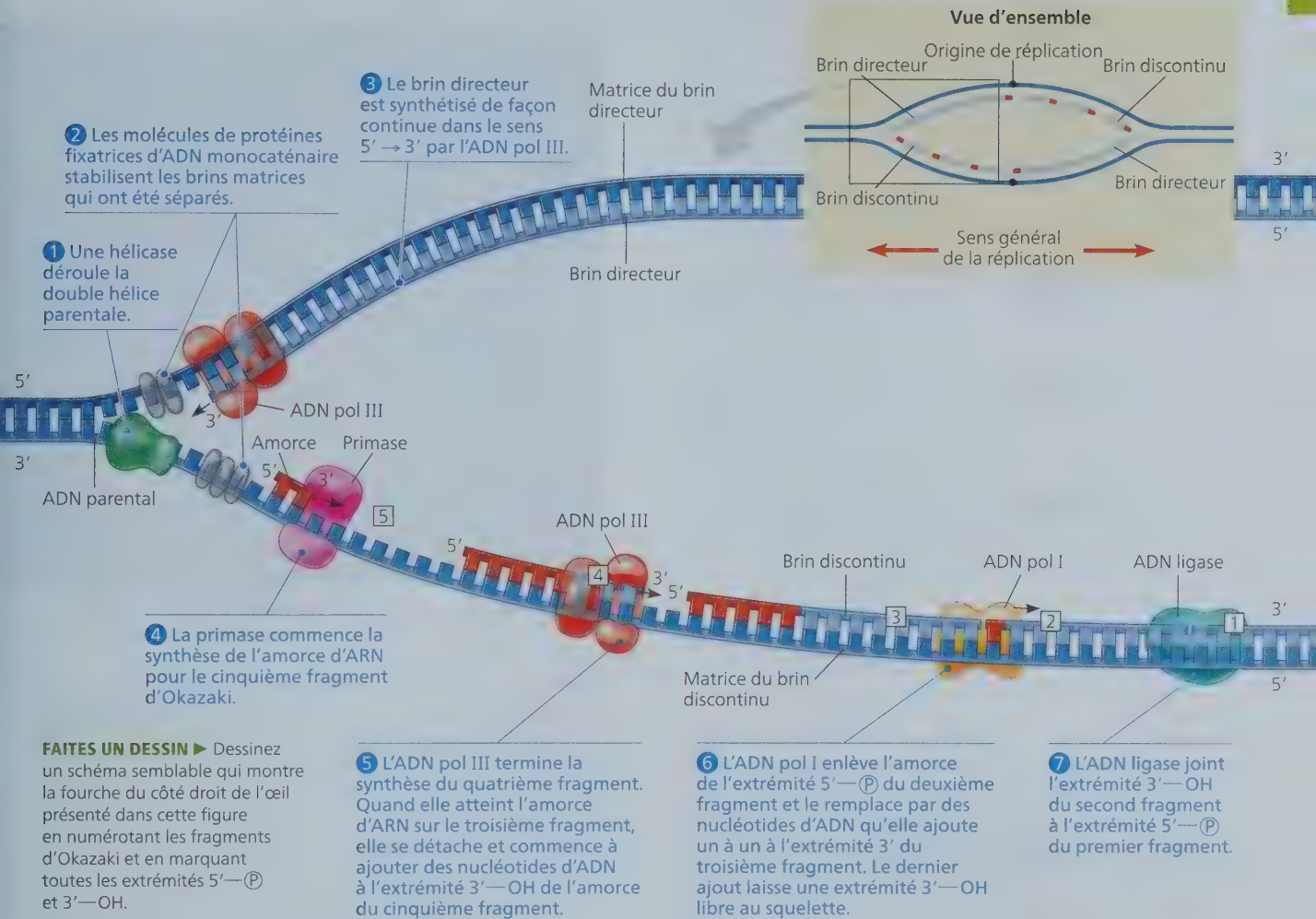
### Le complexe de réplication de l'ADN

On représente souvent les molécules d'ADN polymérase comme des locomotives avançant sur une « voie ferrée » formée d'ADN (ce qui est commode), mais ce modèle est inexact pour deux raisons principales. Premièrement, les différentes protéines regroupées en 10 sous-unités qui assurent la réplication de l'ADN forment un seul grand complexe (appelé *réplisome*), qui est en quelque sorte une « machine à reproduire l'ADN » qu'on pourrait considérer comme un organe de réplication. De nombreuses interactions entre les protéines du réplisome contribuent à rendre le complexe plus efficace. Par exemple, par son interaction avec d'autres protéines, la primase joue apparemment un rôle de frein moléculaire, ce qui ralentit la progression de la fourche de réplication et coordonne les mises en place des amorces et les vitesses de réplication sur les brins directeur et discontinu. Deuxièmement, le complexe de réplication de l'ADN est probablement stationnaire pendant le processus; ce serait plutôt l'ADN qui se déplace à travers le complexe pendant la réplication. Il n'est pas exclu que ce processus varie d'une espèce à l'autre. Dans les cellules eucaryotes, on croit que de multiples exemplaires de ce complexe regroupés en « usines » (ou *foyers de réplication*) pourraient se fixer à la matrice nucléaire (un réseau de fibres occupant l'intérieur du noyau). Des données expérimentales portant sur certains types de cellules soutiennent l'hypothèse d'un modèle dans lequel un dimère de polymérase, une molécule sur chaque brin matrice, « remonte » l'ADN parental et expulse simultanément les molécules filles d'ADN nouvellement produites (celle du brin directeur et celle du brin discontinu). Dans ce modèle dit « en trombone », la matrice du brin discontinu s'enroule en boucle à travers le complexe, ce qui permet d'inverser son orientation, faisant en sorte que les deux brins matrices s'allongent alors dans la même direction (**figure 16.18**).

▼ **Figure 16.16** La synthèse du brin discontinu.



▼ **Figure 16.17** Résumé de la réplication de l'ADN bactérien. Le schéma détaillé ci-dessous montre la fourche de réplication à gauche de l'œil de réplication dans la petite illustration présentant une vue d'ensemble (en haut, à droite). Si l'on regarde chacun des nouveaux brins, on remarque que la moitié de leur longueur est synthétisée de façon continue, sous forme de brin directeur, alors que l'autre moitié (de l'autre côté du point d'origine) est synthétisée par fragments, sous forme de brin discontinu.



**FAITES UN DESSIN** ► Dessinez un schéma semblable qui montre la fourche du côté droit de l'œil présenté dans cette figure en numérotant les fragments d'Okazaki et en marquant toutes les extrémités 5'—P et 3'—OH.

## La « correction d'épreuves » et la réparation de l'ADN

La précision de la réplication de l'ADN ne résulte pas uniquement de la spécificité de l'appariement des bases azotées. Au départ, les erreurs d'appariement entre les nouveaux nucléotides et ceux du brin matrice sont de l'ordre de 1 sur  $10^5$  (100 000) nucléotides. Toutefois, dans le nouvel ADN d'une cellule fille produite par mitose, les erreurs d'appariement sont 100 000 fois moins nombreuses, soit une erreur par  $10^{10}$  nucléotides (10 milliards). Cette précision s'explique du fait que pendant la réplication, bon nombre d'ADN polymérases procèdent elles-mêmes à la lecture de chacun des nucléotides ajoutés, les comparant à la matrice aussitôt qu'ils sont intégrés au brin en croissance par une liaison covalente. Lorsqu'une polymérase trouve une paire de nucléotides mal appariés au cours de cette « correction d'épreuves », elle enlève le nucléotide inadéquat et refait la

synthèse. (Cette correction est analogue à celle qui consiste à corriger une faute de frappe en supprimant la lettre erronée et en tapant ensuite la bonne lettre.)

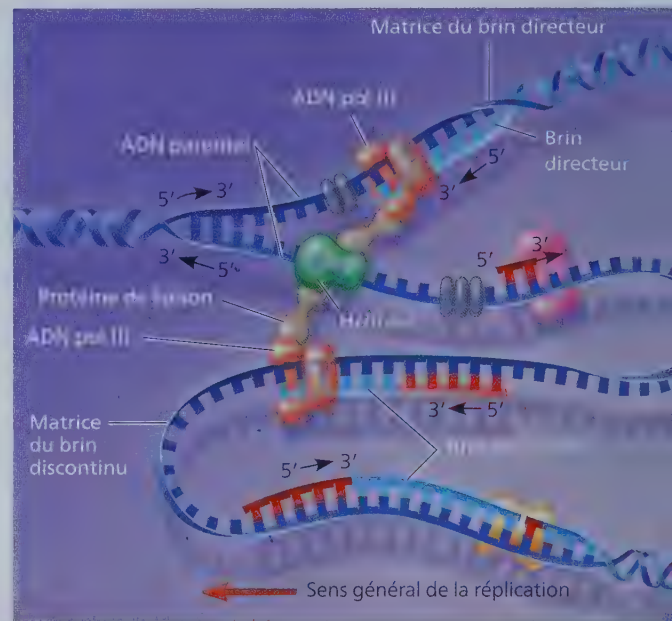
Il arrive parfois que les nucléotides mal appariés échappent à la vigilance de l'ADN polymérase durant la « correction d'épreuves » dont nous venons de parler. Lors de la **réparation des mésappariements des bases**, d'autres enzymes enlèvent les paires de nucléotides mal appariées à la suite d'erreurs de réplication (ou de mutations temporaires) et les remplacent. Les chercheurs ont commencé à comprendre le rôle de ces enzymes de réparation lorsqu'ils ont découvert qu'une anomalie héréditaire touchant l'une d'entre elles est liée à une forme de cancer du côlon. Il semble que cette anomalie permette aux erreurs cancérogènes de s'accumuler dans l'ADN à une vitesse supérieure à la normale.

Des nucléotides mal appariés ou modifiés peuvent également apparaître après la réplication. En fait, l'information génétique

**Tableau 16.1** Protéines de réplication de l'ADN bactérien et leurs fonctions

Protéine	Fonction
Hélicase	Déroule la double hélice parentale aux fourches de réplication.
Protéines fixatrices d'ADN monocaténaire	Se lient à l'ADN monocaténaire et le stabilisent jusqu'à ce qu'il puisse servir de matrice.
ADN gyrase	Allège les tensions dues au surenroulement en amont des fourches de réplication en coupant les brins d'ADN, puis en les faisant pivoter et en les recollant.
Primase	Synthétise une amorce d'ARN à l'extrémité 5'—P du brin directeur et à l'extrémité 5'—P de chaque fragment d'Okazaki.
ADN pol III	En utilisant l'ADN parental comme matrice, synthétise un nouveau brin d'ADN par addition de nucléotides à l'extrémité 3'—OH d'un brin d'ADN préexistant ou d'une amorce d'ARN.
ADN pol I	Enlève les nucléotides d'ARN de l'amorce, à partir de son extrémité 5'—P et les remplace avec des nucléotides d'ADN ajoutés à l'extrémité 3'—OH du fragment adjacent.
ADN ligase	Lie les fragments d'Okazaki du brin discontinu; lie l'extrémité 3'—OH de l'ADN qui remplace l'amorce au reste de l'ADN du brin directeur.

▼ **Figure 16.18** Le modèle «en trombone» du complexe de réplication de l'ADN. Dans ce modèle, deux molécules d'ADN pol III, chacune située sur un brin, travaillent conjointement avec l'hélicase et d'autres protéines dans un complexe (*réplisome*). La matrice du brin discontinu forme, à travers ce complexe, une boucle qui ressemble à la coulisse d'un trombone.



**FAITES UN DESSIN** ► Dans la figure ci-dessus, tracez une ligne tout au long de la séquence d'ADN pour indiquer où se trouve la matrice du brin discontinu.

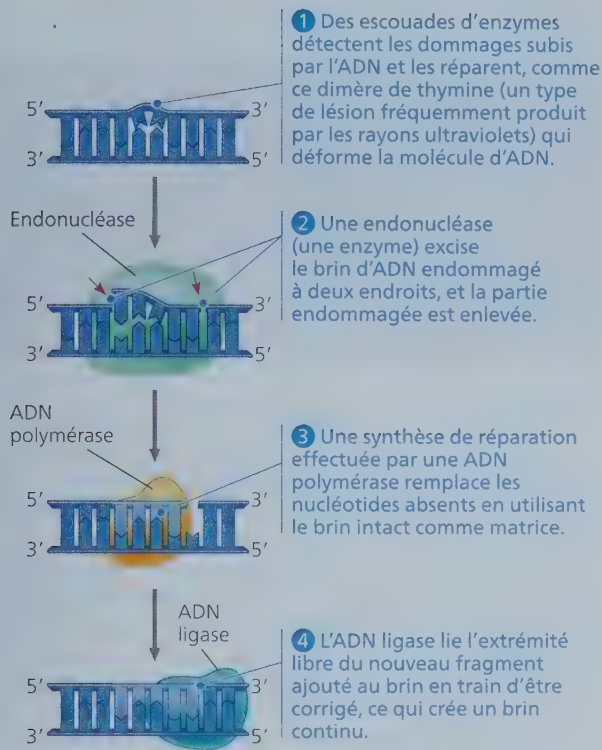
encodée doit être entretenue. Elle exige de fréquentes réparations, parce que l'ADN subit divers types de lésions. Les molécules d'ADN sont constamment exposées à des agents physiques et chimiques nocifs, tels que les rayons X, comme nous le verrons au concept 17.5. De plus, les bases de l'ADN peuvent subir des modifications chimiques spontanées dans les conditions qui existent normalement dans la cellule. Toutefois, tous ces changements dans l'ADN sont généralement corrigés avant qu'ils ne constituent des modifications permanentes (des *mutations*) qui se reproduisent au cours des réplications successives. Chaque cellule surveille et répare son matériel génétique en permanence. La réparation de l'ADN endommagé est essentielle à la survie de l'organisme. Il n'est donc pas surprenant que les enzymes de réparation de l'ADN soient apparues en si grand nombre au cours de l'évolution. On en connaît près de 100 chez *E. coli* et, à ce jour, on en a identifié 170 chez les humains.

La plupart des systèmes cellulaires de réparation des nucléotides mal appariés, que ce soit à cause de dommages subis par l'ADN ou par suite d'erreurs de réplication, utilisent des processus qui reposent sur le mécanisme de l'appariement des bases. Dans de nombreux cas, un segment du brin endommagé, comportant une trentaine de nucléotides chez les eucaryotes, est enlevé (excisé) par une enzyme de découpage de l'ADN (une **endonucléase**) en utilisant le brin intact comme matrice. Les enzymes qui effectuent ce remplacement sont l'ADN polymérase

et l'ADN ligase. Ce type d'intervention est appelé **réparation par excision de nucléotides** (figure 16.19). Notez que pour simplifier la représentation, seulement cinq nucléotides sont excisés dans cette figure, alors que, normalement, les nucléotides seraient remplacés sur une plus grande portion de l'ADN (environ 10 fois plus longue).

Dans les cellules de notre peau, les enzymes de réparation de l'ADN corrigent les dommages infligés à notre matériel génétique par les rayons ultraviolets du Soleil. La figure 16.19 illustre un type de lésion ainsi causé : la liaison covalente de bases de thymine adjacentes sur un brin d'ADN. Les *dimères de thymine* de ce type déforment l'ADN et entravent sa réplication. La maladie appelée mélanose lenticulaire progressive (ou xeroderma pigmentosum) permet de comprendre à quel point la réparation de tels dommages est capitale. Dans la plupart des cas, il s'agit d'une maladie héréditaire autosomique récessive impliquant un des sept gènes responsables du mécanisme de réparation par excision de nucléotides. Les personnes atteintes sont extrêmement sensibles à la lumière du soleil et, entre autres choses, voient apparaître des plaques pigmentées et des ulcères sur les régions cutanées exposées à la lumière. Dans les cellules de ces plaques, les mutations produites par les rayons ultraviolets ne sont pas corrigées. Elles entraînent des risques élevés de cancer de la peau. Les effets de ces mutations sont désastreux : sans protection solaire, les enfants atteints de la maladie peuvent souffrir d'un cancer avant l'âge de 10 ans.

▼ **Figure 16.19** La réparation de l'ADN par excision de nucléotides.



## Les nucléotides de l'ADN modifiés et l'évolution

**ÉVOLUTION** La réplication fidèle du génome et la réparation de l'ADN sont importantes pour le fonctionnement des organismes et pour la transmission à la génération suivante d'un génome complet et exact. Le taux d'erreurs après la « correction d'épreuves » et la réparation est négligeable, mais quelques rares erreurs demeurent. Quand la réplication d'une paire de nucléotides mal appariés est terminée, la modification de la séquence est permanente dans la molécule fille qui porte le nucléotide incorrect, de même que dans toutes les copies subséquentes. Comme nous l'avons mentionné précédemment, un changement permanent de la séquence d'ADN est appelé *mutation*.

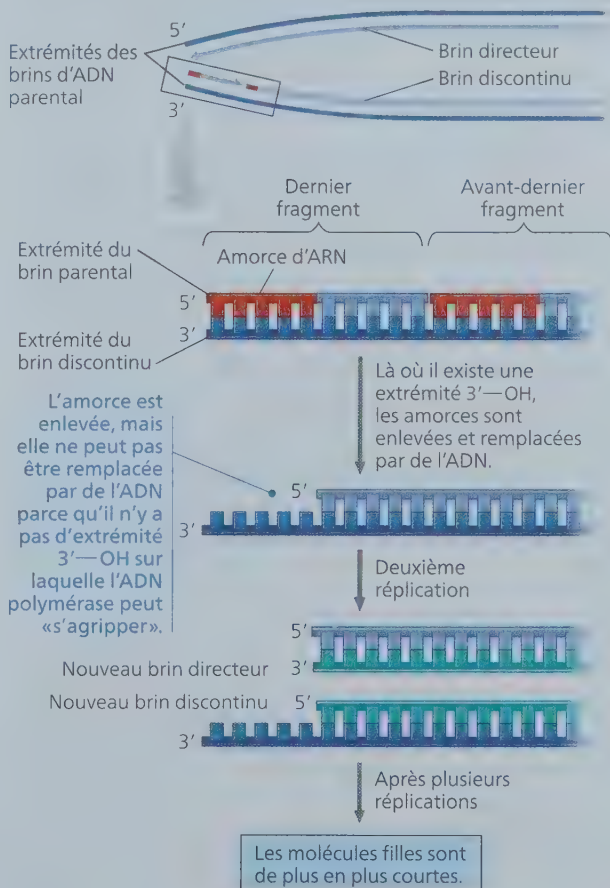
Les mutations peuvent modifier le phénotype d'un organisme (comme vous le verrez au concept 17.5). Si elles se produisent dans les cellules reproductrices (qui donnent naissance aux gamètes), les mutations peuvent être transmises de génération en génération. La grande majorité de ces changements sont néfastes ou n'exercent aucun effet, mais un très petit pourcentage peut être bénéfique. Dans un cas comme dans l'autre, les mutations sont à l'origine des variations sur lesquelles la sélection naturelle agit pendant l'évolution et sont en définitive responsables de l'apparition de nouvelles espèces. (Vous en apprendrez davantage sur ce processus dans la quatrième partie de ce manuel.) Malgré la haute fidélité des mécanismes de réplication ou de réparation de l'ADN, il reste juste assez de mutations pour favoriser l'apparition de nouvelles protéines participant à l'expression de différents phénotypes, tout en maintenant les caractéristiques essentielles à la vie. Sur de longues périodes de

temps, ce processus a permis l'évolution d'une riche diversité d'espèces qui peuplent la Terre aujourd'hui.

## La réplication des extrémités des molécules d'ADN

Lorsque l'ADN est linéaire, le mécanisme normal de réplication ne permet pas de compléter l'extrémité 5'—P des brins d'ADN nouvellement formés. Il s'agit là d'une autre conséquence liée au fait qu'une ADN polymérase ne peut ajouter des nucléotides qu'à l'extrémité 3'—OH d'un polynucléotide préexistant. Même si une amorce d'ARN liée à l'extrémité du brin matrice par une liaison hydrogène peut commencer la synthèse d'un fragment d'Okazaki, cette amorce ne peut pas être remplacée par de l'ADN une fois qu'elle est enlevée. En effet, il n'y a pas d'extrémité 3'—OH sur laquelle l'ADN polymérase peut ajouter des nucléotides (figure 16.20). Au fil des réplications successives, les molécules d'ADN deviennent de plus en plus courtes et leurs extrémités sont inégales (« décalées »).

▼ **Figure 16.20** Le raccourcissement des extrémités de molécules d'ADN linéaires. Nous suivons ici le comportement de l'extrémité d'un brin d'une molécule d'ADN qui subit deux réplications. Après la première réplication, le nouveau brin discontinu est plus court que sa matrice. Après la deuxième réplication, le brin directeur et le brin discontinu sont tous les deux raccourcis par rapport à l'ADN parental de départ. Les autres extrémités de ces ADN, qui ne sont pas représentées dans cette illustration, sont également raccourcies.



La majorité des procaryotes ont un ADN circulaire, donc sans extrémités, de sorte qu'il ne se produit pas de raccourcissement de l'ADN. Mais qu'est-ce qui protège les gènes des chromosomes linéaires chez les eucaryotes contre une disparition pendant les réplifications successives de l'ADN ? Il s'avère que l'extrémité des molécules d'ADN chromosomique des eucaryotes porte des séquences nucléotidiques particulières nommées **téломères** (figure 16.21), qui ne correspondent pas à un gène. Il s'agit en fait d'une même séquence nucléotidique courte, mais répétée un grand nombre de fois. Dans chaque téломère humain, par exemple, la séquence constituée de 6 nucléotides, TTAGGG, est répétée entre 200 et 2 500 fois.

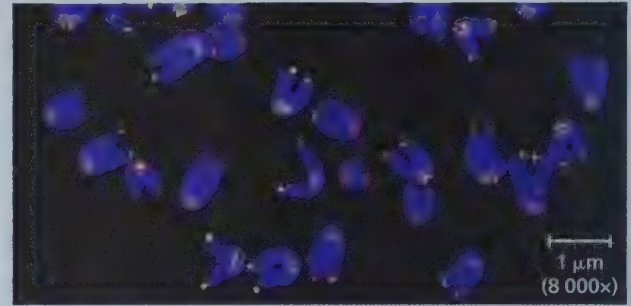
Les téломères remplissent deux fonctions de protection : d'abord, certaines protéines spécifiques qui leur sont associées empêchent les extrémités d'une molécule fille d'activer le système d'alarme cellulaire. (Les extrémités décalées d'une molécule d'ADN, qui résultent souvent de cassures du double brin, peuvent déclencher un signal conduisant à l'arrêt du cycle cellulaire ou à la mort de la cellule.) Ensuite, ils agissent comme une zone tampon en prévenant dans une certaine mesure le raccourcissement des gènes de l'organisme. On pourrait les comparer à l'extrémité en plastique d'un lacet, qui empêche le tissu de s'effiloche. Les téломères ne préviennent donc pas l'érosion des gènes près de l'extrémité des chromosomes mais ils la retardent, tout simplement.

Comme l'illustre la figure 16.20, les téломères raccourcissent à l'issue de chaque réplification. L'ADN téломérique, tel qu'on s'y attend, est généralement plus court dans les cellules somatiques qui se sont divisées un grand nombre de fois, par exemple chez les individus âgés et dans les cellules cultivées. Certains scientifiques pensent que les téломères raccourcissent en quelque sorte reliés au processus de vieillissement de plusieurs tissus, voire de l'organisme lui-même.

Mais qu'en est-il des cellules dont les génomes doivent demeurer pratiquement inchangés quand ils passent d'un individu à ses descendants pendant de nombreuses générations ? Si les chromosomes des cellules reproductrices se raccourcissent à chaque cycle cellulaire, des gènes essentiels finiraient par être absents des gamètes des générations suivantes. Toutefois, ce n'est pas ce qui se produit, car la *téломérase*, une enzyme particulière possédant sa propre matrice d'ARN, catalyse l'élongation des téломères dans les cellules reproductrices eucaryotes. Elle restaure ainsi leur longueur originale et compense les raccourcissements successifs que les chaînes d'ADN subissent au cours de leur réplification. La téломérase contient sa propre molécule d'ARN, qu'elle utilise comme matrice pour prolonger, de façon artificielle, le brin directeur. Elle lui permet ainsi de conserver une longueur spécifique. Dans la plupart des cellules somatiques humaines, la téломérase est inactive, mais son activité varie d'un tissu à l'autre. L'activité de la téломérase dans les cellules reproductrices produit des téломères de longueur maximale dans le zygote.

Le raccourcissement normal des téломères protégerait du cancer en empêchant les cellules somatiques de dépasser un certain nombre de divisions (de 50 à 80 en général, pour les animaux). Les cellules provenant de grosses tumeurs présentent souvent des téломères anormalement petits, comme on s'y attend dans le cas de cellules ayant subi un grand nombre de divisions. Ce raccourcissement progressif pourrait mener à l'autodestruction des cellules tumorales. Malheureusement, l'activité de la téломérase est anormalement élevée dans les cellules somatiques cancéreuses ; il semble que la capacité de cette enzyme à stabiliser la longueur

▼ **Figure 16.21 Les téломères.** Les extrémités de l'ADN des eucaryotes comportent des séquences répétitives non codantes, appelées téломères. Le colorant orange marque les téломères de ces chromosomes de souris (MP).



des téломères permettrait à ces cellules cancéreuses de survivre. Une capacité de division cellulaire illimitée serait une caractéristique de nombreuses cellules cancéreuses, tout comme les souches immortelles de cellules cultivées (voir le concept 12.3). Pendant de nombreuses années, les chercheurs ont étudié l'inhibition de la téломérase en tant que mécanisme potentiel pour le traitement du cancer. Dans certaines études, l'inhibition de la téломérase a entraîné la mort des cellules tumorales chez des souris présentant des tumeurs cancéreuses. Toutefois, après un certain temps, ces cellules sont parvenues à trouver d'autres voies métaboliques pour rétablir la longueur des téломères. L'inhibition de la téломérase fait toujours l'objet de recherches et elle pourrait ultimement conduire à la mise au point de traitements utiles contre le cancer.

## RETOUR SUR LE CONCEPT 16.2

1. Quel rôle l'appariement des bases complémentaires joue-t-il dans la réplification de l'ADN ?
2. Nommez deux principales fonctions de l'ADN pol III dans la réplification de l'ADN.
3. **FAITES DES LIENS** ► Quelle est la relation entre la réplification de l'ADN et la phase S du cycle cellulaire ? Voir la figure 12.6.
4. **HABILETÉS VISUELLES** ► Si l'ADN pol I dans une cellule donnée était non fonctionnelle, comment cela influencerait-il sur la synthèse d'un brin directeur ? Sur la petite illustration présentant une vue d'ensemble dans la figure 16.17, indiquez l'endroit où l'ADN pol I agirait normalement sur le brin directeur du haut.

Voir les réponses proposées à l'appendice A.

## CONCEPT 16.3

### Un chromosome est constitué d'ADN et de protéines regroupés en un complexe nucléoprotéique

Maintenant que vous connaissez la structure et le processus de réplification de l'ADN, revenons un peu en arrière et examinons comment l'ADN est emballé dans ces structures contenant

l'information génétique que sont les chromosomes. Le composant principal du génome dans la plupart des bactéries est une molécule d'ADN bicaténaire de forme circulaire associée à une petite quantité de protéines. Nous appelons cette structure *chromosome bactérien*, bien qu'elle soit très différente des chromosomes eucaryotes. Ces derniers sont en effet constitués de molécules d'ADN linéaire associées à de grandes quantités de protéines. Le chromosome d'*E. coli* comprend environ 4,6 millions de paires de nucléotides comprenant quelque 4 400 gènes. Il contient donc 100 fois plus d'ADN qu'un virus ordinaire, mais 1 000 fois moins qu'une cellule somatique humaine. Il reste que cela représente une quantité phénoménale d'ADN à emballer dans un récipient aussi petit.

L'ADN déployé d'une cellule d'*E. coli* mesurerait environ 1 mm de longueur, ce qui est 500 fois plus long que la cellule elle-même. Cependant, à l'intérieur de la bactérie, certaines protéines forcent le chromosome à s'enrouler en hélice, puis en superhélice, pour se condenser au point de n'occuper finalement qu'une partie du volume de la bactérie. Contrairement au noyau d'une cellule eucaryote, cette région dense où se trouve l'ADN dans une bactérie, et que l'on appelle nucléoïde, n'est pas délimitée par une enveloppe membraneuse (voir la figure 6.5).

Les chromosomes des eucaryotes sont constitués chacun d'une double hélice d'ADN linéaire ; chez l'humain, la longueur moyenne d'un chromosome est de  $1,5 \times 10^8$  paires de nucléotides. Il s'agit d'une énorme quantité d'ADN compte tenu de la longueur d'un chromosome sous sa forme condensée. Si on déroulait complètement cette molécule d'ADN, elle mesurerait 4 cm de long, soit des milliers de fois le diamètre d'un noyau. Et il ne s'agit que d'un seul chromosome sur les 46 que possède une cellule somatique humaine ! Dans tout son génome, l'être humain possède 3,4 milliards de paires de bases, ce qui représenterait, tous les chromosomes mis bout à bout, une chaîne d'ADN de près de 2 m de long dans un noyau d'à peine 10  $\mu\text{m}$  de diamètre !

Dans le noyau de la cellule eucaryote, l'ADN est étroitement associé à une grande quantité de protéines (les histones). Ce complexe d'ADN et de protéines, nommé **chromatine**, arrive à tenir à l'intérieur du noyau grâce à un système complexe de compactage en plusieurs niveaux qui raccourcissent la longueur initiale d'environ 10 000 fois. La **figure 16.22** résume notre conception actuelle des niveaux successifs de condensation dans un chromosome. Étudiez-la attentivement avant de continuer.

Le degré de condensation de la chromatine est soumis à des changements radicaux au cours du cycle cellulaire (voir la figure 12.7). Dans des cellules en interphase que l'on a colorées pour la microscopie photonique, la chromatine apparaît habituellement sous forme d'une masse diffuse au sein du noyau, ce qui donne à penser qu'elle occupe tout l'espace disponible.

Lorsque la cellule se prépare pour la mitose, sa chromatine s'enroule et se replie (se condense), pour finir par former un nombre caractéristique de chromosomes métaphasiques épais et courts qu'il est possible de différencier les uns des autres au moyen d'un microscope photonique (**figure 16.23a**).

Pendant l'interphase, la chromatine est généralement beaucoup moins condensée que pendant la mitose. On peut tout de même y observer certains niveaux de condensation d'ordre supérieur. Une partie de la chromatine correspondant à un chromosome semble présente sous la forme d'une fibre de 10 nm, mais la majeure partie est groupée sous la forme d'une fibre de 30 nm, elle-même repliée en domaines en boucle dans certaines régions. Auparavant, les biologistes pensaient que la chromatine interphasique formait une masse enchevêtrée dans le noyau, comme un plat de spaghettis, mais c'est loin d'être le cas. Bien que le chromosome interphasique n'ait pas de charpente protéique évidente, ses domaines en boucle semblent être liés à la lamina nucléaire située sur la face interne de l'enveloppe nucléaire, et peut-être aux fibres de la matrice nucléaire. Ces liens contribuent probablement à stabiliser des régions où les gènes sont actifs. Pendant l'interphase, la chromatine de chaque chromosome occupe un secteur étroit et bien délimité à l'intérieur du noyau, et les fibres de chromatine des différents chromosomes ne s'emmêlent pas (**figure 16.23b**).

Même au cours de l'interphase, les centromères et les télomères des chromosomes, les corpuscules de Barr des cellules de mammifères femelles et une partie du chromosome Y chez les mammifères (soit, au total, environ 10 % du matériel chromosomique) se trouvent dans un état hautement condensé semblable à celui que l'on observe dans un chromosome métaphasique. Ce type de chromatine interphasique, visible au microscope photonique sous forme d'amas irréguliers, est appelé **hétérochromatine**, par opposition à l'**euchromatine** (« vraie chromatine »), moins compacte. En raison de sa compaction, l'ADN hétérochromatique est en grande partie inaccessible aux structures cellulaires assurant la transcription de l'information génétique codée sous forme d'ADN, une étape essentielle dans l'expression génique. Par contre, étant donné qu'elle est moins condensée, l'euchromatine rend son ADN accessible à ces structures cellulaires et permet la transcription des gènes qu'elle contient. Le chromosome est une structure dynamique qui est condensée, relâchée, modifiée et remodelée au besoin pour différents processus cellulaires, dont la mitose, la méiose et l'activité génique. Les modifications chimiques des histones influent sur l'état de la condensation de la chromatine et exercent également de multiples effets sur l'activité génique, comme nous le verrons au concept 18.2.

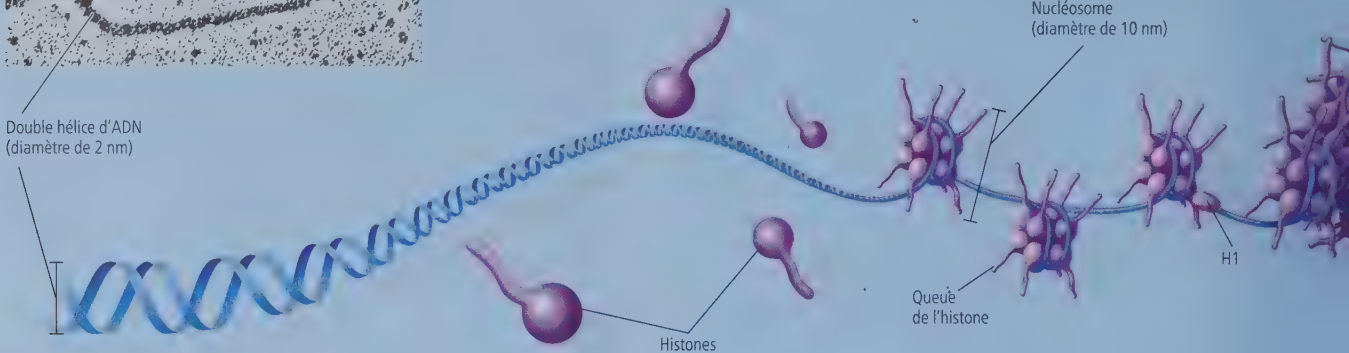
## La condensation de la chromatine dans un chromosome eucaryote

### PANORAMA

Accompagnée de photographies prises au microscope électronique à transmission, cette illustration montre ce que l'on sait aujourd'hui des niveaux d'enroulement et de repliement de l'ADN. L'illustration passe d'une simple molécule d'ADN jusqu'à un chromosome métaphasique assez gros pour être vu au microscope photonique.



Double hélice d'ADN (diamètre de 2 nm)



Nucléosome (diamètre de 10 nm)

Queue de l'histone

H1

### L'ADN, la double hélice

Le modèle en forme de ruban de l'ADN est illustré ci-dessus, chaque ruban représentant un des brins du polynucléotide. Souvenez-vous que tous les groupements phosphate le long du squelette confèrent une charge négative sur toute la partie extérieure de chaque brin. La MET montre une molécule d'ADN nue (sans protéine) ; la double hélice seule mesure 2 nm de largeur.

### Les histones

Dans la chromatine, des protéines appelées **histones** assurent le premier niveau de condensation de l'ADN. Bien que chaque histone soit relativement petite (elle ne contient qu'une centaine d'acides aminés), leur masse totale au sein de la chromatine équivaut à peu près à celle de l'ADN. Plus du cinquième des histones renferme des acides aminés basiques (lysine et arginine) chargés positivement. Par conséquent, ces histones se lient solidement à l'ADN, qui porte des charges négatives.

Dans la chromatine, on trouve plus fréquemment quatre types d'histones (H2A, H2B, H3 et H4). Les histones sont très semblables d'une espèce eucaryote à l'autre ; par exemple, les histones d'un même type, chez la vache et le pois, contiennent les mêmes acides aminés, sauf deux. La conservation apparente des gènes à l'origine des histones au cours de l'évolution reflète vraisemblablement le rôle clé que jouent ces protéines dans la structure de l'ADN à l'intérieur des cellules.

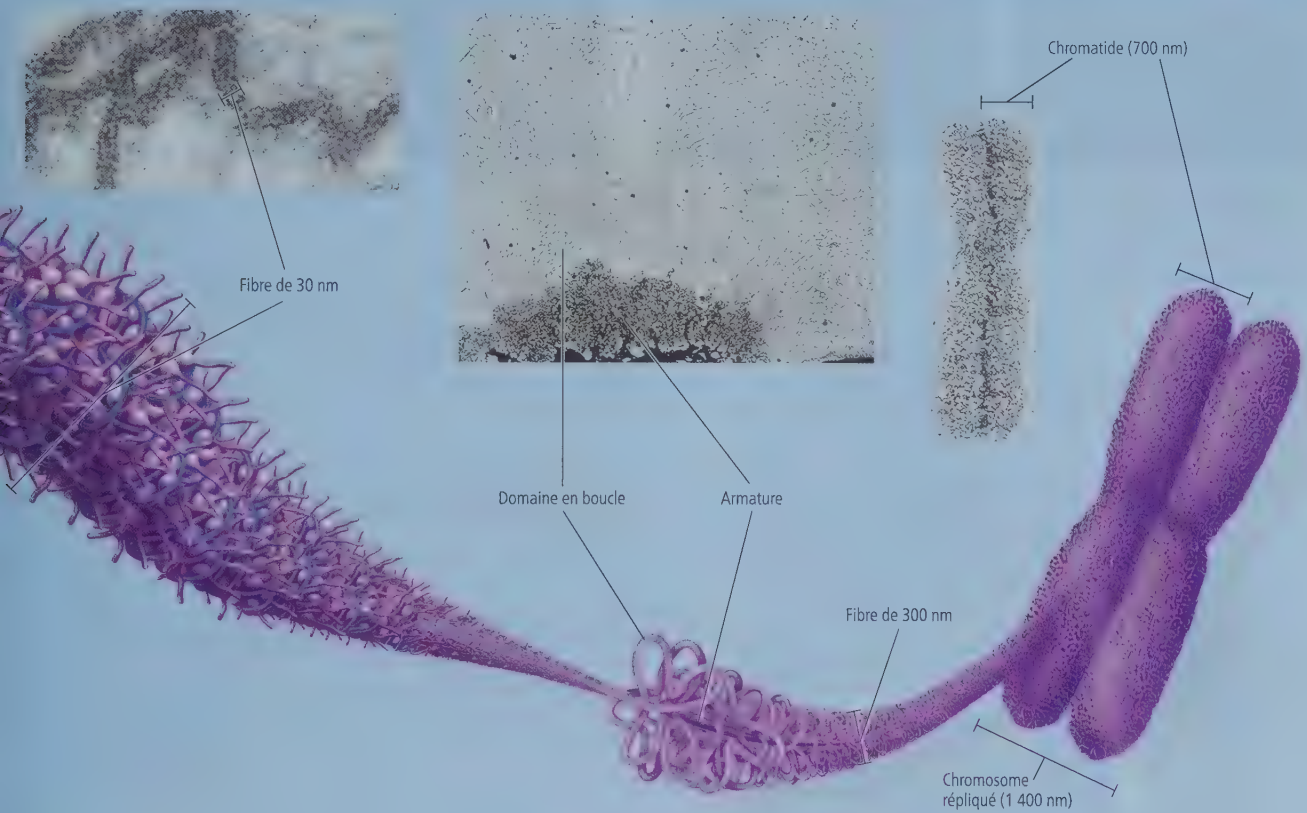
Ces quatre types d'histones interviennent de façon déterminante au cours de l'étape suivante de la condensation de l'ADN. (Un cinquième type d'histone, H1, intervient dans un stade supérieur de condensation.)

### Les nucléosomes ou « collier de perles » (fibre de 10 nm)

Sur les micrographies électroniques, la chromatine déroulée a un diamètre de 10 nm ; elle est appelée *fibre de 10 nm*. Elle ressemble à un collier de perles (voir la MET). Chacune des « perles » forme un **nucléosome**, l'unité fondamentale de la condensation de l'ADN ; le « fil » entre les perles porte le nom d'*ADN internucléosomique* (ou *ADN de liaison*).

Un nucléosome se compose d'ADN enroulé deux fois autour d'un noyau protéique (le *cœur du nucléosome*) lui-même constitué de huit histones (deux molécules de chacun des principaux types). L'extrémité amine (N-terminale) de chaque protéine (la *queue de l'histone*) pointe à l'extérieur du nucléosome.

Dans le cycle cellulaire, les histones ne quittent que brièvement l'ADN pendant la réplication. En général, elles se comportent de la même façon pendant le processus de transcription, qui exige également l'accès à l'ADN par la machinerie moléculaire de la cellule. Les nucléosomes, et plus particulièrement les queues des histones, interviennent dans la régulation de l'expression génétique.



### La fibre de 30 nm

Le niveau de condensation suivant résulte des interactions entre les queues des histones d'un nucléosome, l'ADN internucléosomique et les nucléosomes qui l'entourent. C'est à ce stade qu'intervient la cinquième histone. Ces interactions permettent à la fibre de 10 nm de s'enrouler et de former une fibre de chromatine d'environ 30 nm d'épaisseur, appelée *fibre de 30 nm*. Bien que la fibre de 30 nm soit très courante dans le noyau interphasique, l'arrangement durant la condensation des nucléosomes dans cette forme de chromatine est toujours un sujet de débat.

### Les domaines en boucle (fibre de 300 nm)

À son tour, la fibre de 30 nm forme des boucles, les *domaines en boucle*, qui sont liées à l'armature chromosomique, une structure constituée de protéines. Il se forme donc une *fibre de 300 nm*. Cette charpente est riche en un type de topoisomérase, et les histones H1 semblent également présentes.

### Le chromosome métaphasique

Dans un chromosome en cours de mitose, les domaines en boucle s'enroulent et se replient, eux aussi, d'une manière qui n'est pas encore totalement comprise. Sous l'effet de cet enroulement, la chromatine devient plus compacte et donne au chromosome métaphasique (également illustré dans la micrographie ci-dessus) son aspect caractéristique. La largeur d'une chromatide est de 700 nm. Certains gènes se retrouvent toujours au même endroit sur les chromosomes pendant la métaphase, ce qui indique que les étapes de la condensation sont extrêmement rigoureuses et précises.

▼ **Figure 16.23 La coloration des chromosomes.** Les chercheurs peuvent traiter des chromosomes humains avec des marqueurs moléculaires fluorescents, ce qui permet de colorer différemment chaque paire de chromosomes pour les distinguer plus facilement.



(a) Ici, les chromosomes métaphasiques ont été «colorés» de manière que les deux chromosomes homologues d'une paire aient la même couleur. Dans l'image ci-dessus, on peut voir la distribution des chromosomes traités; à droite, les chromosomes sont classés en paires pour montrer le caryotype.

(b) La possibilité de distinguer visuellement les chromosomes a permis aux chercheurs d'observer leur arrangement dans le noyau interphasique. Comme on peut le voir dans la figure ci-dessus, chaque chromosome semble occuper un territoire spécifique pendant l'interphase. En général, les deux chromosomes homologues d'une paire sont éloignés l'un de l'autre.

**FAITES DES LIENS** ► Vous bloquez une cellule humaine au stade de la métaphase I de la méiose et vous appliquez la technique de la coloration des chromosomes. Qu'observerez-vous? En quoi votre observation diffère-t-elle de ce que vous verriez s'il s'agissait de la métaphase de la mitose? Revoyez les figures 13.8 et 12.7.

Dans le présent chapitre, vous avez appris comment chacune des molécules d'ADN est ordonnée dans un chromosome et comment la réplication de l'ADN fournit les copies des gènes que les parents transmettent à leurs descendants. Cependant, il ne suffit pas que les gènes soient copiés et transmis; l'information qu'ils portent doit être utilisée par la cellule. Autrement dit, les gènes doivent également «être exprimés». Dans le prochain chapitre, nous étudierons comment une cellule exprime l'information génétique codée sous forme d'ADN.

## RETOUR SUR LE CONCEPT 16.3

1. Décrivez la structure d'un nucléosome, l'unité fondamentale de condensation de l'ADN dans les cellules eucaryotes.
2. Quelles sont les deux propriétés, l'une structurale et l'autre fonctionnelle, qui distinguent l'hétérochromatine de l'euchromatine?
3. **FAITES DES LIENS** ► Les chromosomes interphasiques semblent liés à la lamina nucléaire et peut-être également à la matrice nucléaire. Décrivez ces deux structures. Voir la figure 6.9 et le texte qui l'accompagne.

*Voir les réponses proposées à l'appendice A.*

# RÉVISION DU CHAPITRE 16



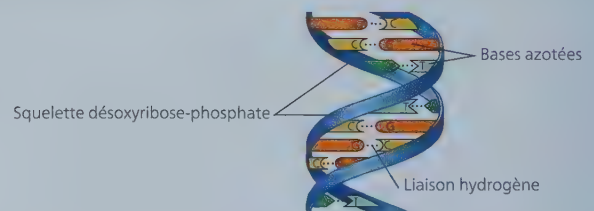
Consultez votre MANUEL NUMÉRIQUE, qui vous donne accès aux **animations**, aux **exercices** et à la plateforme d'**anatomie interactive**.

## Résumé des concepts clés

### CONCEPT 16.1

#### L'ADN constitue le matériel génétique (p. 346 à 352)

- Des expériences menées sur des bactéries et sur des **phages** ont fourni les premières preuves convaincantes que l'ADN constitue bel et bien le matériel génétique.
- Watson et Crick ont démontré que l'ADN a la forme d'une **double hélice** et ont construit un modèle structural. Deux chaînes **antiparallèles** de désoxyribose-phosphate s'enroulent et délimitent l'extérieur de la molécule. Les bases azotées pointent vers l'intérieur, où elles forment des liaisons hydrogène en s'appariant de façon précise: A va avec T, et G avec C.



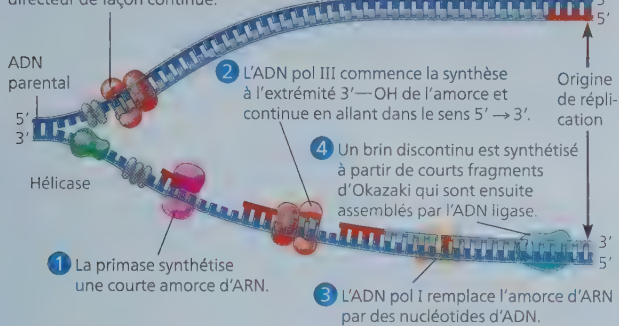
? Que veut dire l'affirmation selon laquelle les deux brins de l'ADN dans la double hélice sont antiparallèles? À quoi ressemblerait l'extrémité de la double hélice si les brins étaient parallèles?

## CONCEPT 16.2

### De nombreuses protéines travaillent de concert pour la réplication et la réparation de l'ADN (p. 352 à 362)

- L'expérience de Meselson-Stahl a démontré que la **réplication de l'ADN** est **semi-conservative**: la molécule mère se déroule, et chaque brin sert de matrice pour la synthèse d'un nouveau brin, conformément aux règles d'appariement des bases azotées.
- La réplication de l'ADN à une **fourche de réplication** est résumée ci-dessous:

L'ADN pol III synthétise un brin directeur de façon continue.



- Des **ADN polymérase**s vérifient que l'ADN nouvellement synthétisé est conforme à ce qu'il devrait être et remplacent les nucléotides erronés. Dans le cas de la **réparation des mésappariements**, d'autres enzymes corrigent les erreurs qui restent. La **réparation par excision de nucléotides** est un processus général par lequel des **nucléases** découpent et remplacent les segments d'ADN qui sont endommagés.
- Chez les eucaryotes, les extrémités (télomères) des molécules d'ADN linéaires (chromosomes) deviennent de plus en plus courtes à chaque réplication. La présence des **télomères**, des séquences répétitives aux extrémités des molécules d'ADN linéaires, retarde l'érosion des gènes. La **télomérase**, une enzyme présente dans les cellules reproductrices, catalyse leur allongement.

➤ Comparez la réplication de l'ADN sur les brins directeur et discontinu, en distinguant les ressemblances et les différences.

## CONCEPT 16.3

### Un chromosome est constitué d'ADN et de protéines regroupés en un complexe nucléoprotéique (p. 362 à 366)

- Chez la plupart des espèces bactériennes, le chromosome forme habituellement une molécule circulaire associée avec des protéines, qui constituent le nucléoïde de la cellule. La **chromatine** qui constitue un chromosome eucaryote se compose d'ADN, d'**histones** et d'autres protéines. Les histones se lient les unes aux autres et à l'ADN pour former les **nucléosomes**, la plus petite unité fondamentale du compactage de l'ADN. Les queues des histones font saillie vers l'extérieur de chaque particule cœur des nucléosomes en forme de perles. D'autres formes d'enroulement et de repliement aboutissent à la formation d'une chromatine hautement condensée d'un chromosome métaphasique.
- Les chromosomes occupent des zones délimitées dans le noyau interphasique. Dans les cellules en interphase, la plus grande partie de la chromatine se trouve sous une forme moins compacte (**euchromatine**), mais une partie reste hautement condensée (**hétérochromatine**). L'euchromatine est généralement accessible pour la transcription des gènes, mais pas l'hétérochromatine.

➤ Décrivez les niveaux de condensation de la chromatine qu'on s'attendrait à voir dans un noyau à l'interphase.

## Évaluation

### NIVEAU 1: CONNAISSANCES ET COMPRÉHENSION

1. En étudiant des bactéries causant une pneumonie chez des souris, Griffith a découvert que:
  - a) la capsule de protéines provenant de cellules lisses pathogènes peut transformer des cellules rugueuses inoffensives.
  - b) les cellules lisses pathogènes tuées par la chaleur peuvent causer une pneumonie seulement lorsqu'elles sont transformées par l'ADN des cellules rugueuses.
  - c) une certaine substance chimique provenant des cellules lisses pathogènes est transmise aux cellules rugueuses inoffensives et les rend pathogènes.
  - d) la capsule de polysaccharides des cellules rugueuses cause la pneumonie.
2. Parmi les affirmations suivantes, laquelle explique la différence entre la synthèse d'un brin directeur et celle d'un brin discontinu dans les molécules d'ADN?
  - a) Les origines de réplication ne se trouvent qu'à l'extrémité 5'—(P) de la molécule.
  - b) Les hélicases et les protéines fixatrices d'ADN monocaténaire agissent à l'extrémité 5'—(P).
  - c) Les ADN polymérase ne peuvent ajouter de nouveaux nucléotides qu'à l'extrémité 3'—OH d'un brin préexistant, et les brins sont antiparallèles.
  - d) L'ADN ligase ne fonctionne que dans le sens 3' → 5'.
3. Si l'on comptait le nombre de bases de chaque type contenues dans un échantillon d'ADN, quel résultat serait en accord avec les règles d'appariement des bases?
  - a)  $A = G$ .
  - b)  $A + G = C + T$ .
  - c)  $A + T = G + C$ .
  - d)  $A = C$ .
4. Durant la synthèse de l'ADN, l'élongation du brin directeur:
  - a) se poursuit en s'éloignant de la fourche de réplication.
  - b) se déroule dans le sens 3' → 5'.
  - c) produit des fragments d'Okazaki.
  - d) dépend de l'action de l'ADN polymérase.
5. Dans un nucléosome, l'ADN est enroulé autour:
  - a) d'histones.
  - b) de ribosomes.
  - c) de molécules de polymérase.
  - d) d'un dimère de thymine.

### NIVEAU 2: APPLICATION ET ANALYSE

6. Des bactéries *E. coli* cultivées dans un milieu contenant du  $^{15}\text{N}$  sont transférées dans un milieu contenant du  $^{14}\text{N}$ , où on les laisse croître pendant deux générations (l'ADN se réplique deux fois). On centrifuge ensuite l'ADN extrait de ces bactéries. Quelle devrait être la distribution de la masse volumique de l'ADN à la suite de cette expérience? On devrait obtenir:
  - a) une bande d'ADN lourd et une bande d'ADN léger.
  - b) une bande de masse volumique intermédiaire.
  - c) une bande d'ADN lourd et une bande d'ADN de masse volumique intermédiaire.
  - d) une bande d'ADN léger et une bande d'ADN de masse volumique intermédiaire.
7. Une biochimiste a isolé, purifié et mélangé dans une éprouvette diverses molécules nécessaires à la réplication de l'ADN. Lorsqu'elle a ajouté un peu d'ADN au mélange, une réplication s'est produite, mais chaque molécule d'ADN qui s'est formée se compose d'un brin d'ADN normal apparié à un grand nombre de segments d'ADN d'une longueur de quelques centaines de nucléotides. Quel élément a-t-elle probablement oublié d'incorporer dans le mélange?
  - a) L'ADN polymérase.
  - b) L'ADN ligase.
  - c) Les fragments d'Okazaki.
  - d) La primase.

8. La perte spontanée de groupements amine par l'adénine dans l'ADN produit de l'hypoxanthine, une base azotée peu commune qui s'apparie à la thymine. Quelle combinaison de protéines peut réparer ce type de dommage?
- Endonucléase, ADN polymérase et ADN ligase.
  - Téломérase, ADN primase et ADN polymérase.
  - Téломérase, hélicase et protéines fixatrices d'ADN monocaténaire.
  - ADN ligase, protéines de réplication et adénylcyclase.
9. **FAITES DES LIENS** ► Les protéines responsables de l'enroulement du chromosome d'*E. coli* ne sont pas des histones; quelle propriété doit-on s'attendre à ce que ces protéines partagent avec les histones, compte tenu de leur capacité à se lier à l'ADN (voir la figure 5.16)?

### NIVEAU 3 : SYNTHÈSE ET ÉVALUATION

#### 10. INVESTIGATION

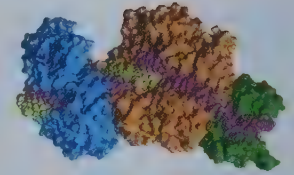
##### FAITES UN DESSIN ►

La construction de modèles peut s'avérer une étape importante de la démarche scientifique.

L'illustration ci-contre est un modèle généré par ordinateur du complexe de réplication de l'ADN.

Les brins d'ADN parental et nouvellement synthétisé sont identifiés par un code de couleurs différentes, tout comme le sont les trois protéines suivantes: ADN pol III, la pince coulissante et la protéine fixatrice d'ADN monocaténaire.

- À l'aide de ce que vous avez appris dans le présent chapitre, clarifiez ce modèle en identifiant chaque brin d'ADN et chaque protéine.
- Tracez une flèche pour indiquer le sens général de la réplication de l'ADN.



*Voir les réponses proposées à l'appendice A.*